

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE  
PROGRAMA INTERINSTITUCIONAL DE PÓS-GRADUAÇÃO  
EM CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS – PIPGCF UFSCAR/UNESP

ALTERAÇÕES AGUDAS NO METABOLISMO ENERGÉTICO DE  
RATOS SUBMETIDOS AO EXERCÍCIO RESISTIDO EM ESCADA.

JOÃO GUILHERME DE OLIVEIRA SILVESTRE

São Carlos

2012

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE  
PROGRAMA INTERINSTITUCIONAL DE PÓS-GRADUAÇÃO  
EM CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS – PIPGCF UFSCAR/UNESP

ALTERAÇÕES AGUDAS NO METABOLISMO ENERGÉTICO DE  
RATOS SUBMETIDOS AO EXERCÍCIO RESISTIDO EM ESCADA

Dissertação apresentada ao  
Programa Interinstitucional de Pós  
Graduação em Ciências Fisiológicas  
(PIPGCF – UFSCar/UNESP) do Centro de  
Ciências Biológicas e da Saúde da  
Universidade Federal de São Carlos,  
como parte dos requisitos para obtenção  
do título de Mestre em Ciências  
Fisiológicas.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Ana  
Cláudia Garcia de Oliveira Duarte

São Carlos  
2012

**Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da  
Biblioteca Comunitária da UFSCar**

S587aa

Silvestre, João Guilherme de Oliveira.

Alterações agudas no metabolismo energético de ratos submetidos ao exercício resistido em escada / João Guilherme de Oliveira Silvestre. -- São Carlos : UFSCar, 2012.  
43 f.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal de São Carlos, 2012.

1. Fisiologia. 2. Exercício agudo em escada. 3. Glicogênio. 4. Ácidos graxos. 5. Lactato. 6. Corticosterona. I. Título.

CDD: 612 (20<sup>a</sup>)

Programa Interinstitucional de Pós-Graduação em Ciências  
Fisiológicas  
Associação Ampla UFSCar/UNESP

Folha de Aprovação

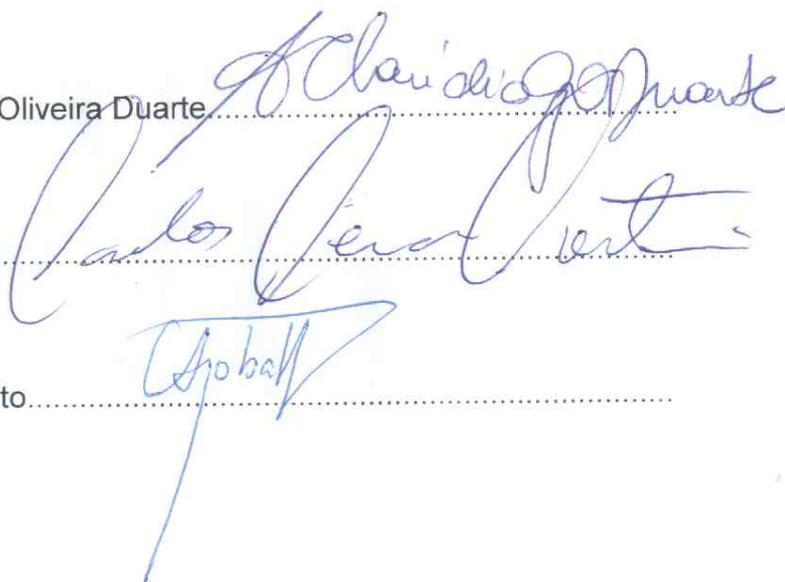
Dissertação de Mestrado de João Guilherme de Oliveira  
Silvestre

Dia 22/05/2012

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Ana Claudia Garcia de Oliveira Duarte.....

Prof. Dr. Carlos César Crestani.....

Prof. Dr. Claudio Alexandre Gobatto.....



## **DEDICATÓRIA**

Dedico este trabalho à minha avó, que sempre me apoio, principalmente nos estudos, mesmo na situação que ela se encontra atualmente, e com certeza está muito feliz com mais essa conquista minha. Dedico também à minha mãe que também sempre me apoiou em todos os momentos. Amo Vocês.

## **AGRADECIMENTOS**

À minha mãe, que sempre teve paciência e me apoiou em todos os momentos do mestrado.

À minha orientadora, Ana Claudia Garcia de Oliveira Duarte, por abrir as portas me dando uma oportunidade única e pela confiança na realização deste trabalho.

Ao meu grande amigo Guilherme Speretta, por estar sempre me auxiliando, orientando e pela paciência em todos os momentos de dificuldade.

Aos meus colegas de laboratório Marisa, Rafael, Anderson, Toninho, Bel, Adriana, Marcela, Fernanda, Cynthia, Karina e Jorge, pela ajuda nos experimentos, convivência e amizade. Ao técnico José Alves pela ajuda nos experimentos.

Ao pessoal do departamento de Genética e Evolução, Fernanda e Fernando, por me ensinarem as técnicas e os procedimentos. Ao professor Gilberto Moraes por oferecer o espaço do laboratório para análises.

À aluna Nayara, do departamento de Morfologia e Patologia, pela ajuda e paciência nas análises e a professora Fernanda Anibal por oferecer o espaço do laboratório para as análises.

Ao amigo (guru) Charles pela ajuda, conselhos e paciência desde a minha primeira disciplina.

À grande amiga Elaine, pelo incentivo, pela ajuda, pelos conselhos e por todos os bons momentos vividos desde 2009.

A todos os amigos e pessoas que não participaram diretamente deste trabalho, mas que me ajudaram com incentivo, apoio, compreensão e amizade.

**Muito Obrigado!!**

*"Um homem nunca sabe do que é capaz até que é obrigado a tentar"* Charles Dickens.

## RESUMO

Atualmente, pesquisas com animais usam muitos protocolos de exercícios, com o objetivo de mimetizar as condições de exercícios realizados por humanos. Os protocolos de endurance (aeróbios) são estudados com grande frequência, no entanto algumas dificuldades são encontradas no sentido de produzir um protocolo de exercício resistido para animais. Alguns protocolos foram criados, utilizando principalmente modelos onde os animais realizam saltos. Um protocolo que tem se destacado é o de escalada e tem sido largamente utilizado em animais saudáveis e não saudáveis. Entretanto, as respostas fisiológicas agudas desse protocolo não foram determinadas até o momento. Portanto, o objetivo do presente estudo foi avaliar as características metabólicas agudas do exercício resistido realizado em escada, e examinar os efeitos agudos em marcadores indiretos de lesão muscular. Foram utilizados 50 ratos Wistar divididos randomicamente em dois grupos: Controle (C) e Exercício Resistido (ER). Os animais do grupo ER escalaram uma escada vertical de 1,1 m com pesos fixados em suas caudas. Foi realizada somente uma sessão com 4-9 escaladas. Os níveis de lactato foram maiores nas primeiras escaladas em relação ao repouso, e se mantiveram constantes até o final do exercício. As concentrações de corticosterona encontradas no grupo ER foram maiores (59%;  $p < 0,05$ ) quando comparadas ao grupo C. Não houve diferença significativa no conteúdo de ácidos graxos do plasma (24%  $p = 0,109$ ), do fígado (8%;  $p = 0,575$ ) e do músculo gastrocnêmio (17%;  $p = 0,219$ ). O conteúdo de glicogênio hepático (42%;  $p < 0,05$ ) e muscular (sóleo) (56%;  $p < 0,05$ ) foi diferente entre os grupos. Os níveis de Lactato Desidrogenase (LDH) e Creatina Kinase (CK) foram maiores (LDH 32%; CK 27%;  $p < 0,05$ ) no grupo ER quando comparados ao grupo C. Os resultados sugerem que esse protocolo de exercício resistido é um exercício de alta intensidade, visto que a concentração de lactato aumentou no início do exercício e houve um maior nível de microlesão muscular após o exercício. No entanto, a concentração do lactato foi baixa, sugerindo que o metabolismo aeróbio contribui de forma importante durante os intervalos entre as séries de escalada.

Palavras chave: Exercício Resistido; Metabolismo Energético; LDH; CK; Corticosterona; Lactato; Glicogênio.

## ABSTRACT

Previous animal's research has shown that many protocols with aimed to mimic human exercise has been used. The endurance protocols are studied very often however, some difficulties are encountered to produce resistance exercise protocols. Some animal models of resistance training have been used, as jumping exercise. Among these, stands out the rat model performed on ladder with healthy and unhealthy animals. However, the energy system and acute physiological responses associated with this protocol have not been determined. Thus, the aim of the present study was to evaluate the acute metabolic characteristics and the acute effects on indirect biomarkers of muscular microtrauma of acute resistance exercise performed on ladder. Fifty males Wistar rats were randomly divided into two groups: Exercise (E) and Control (C). The animals of E group climbed a vertical ladder with weights attached to their tails. The session was performed once with 4–9 climbs. The lactate concentration increased at the beginning of training and there was a tendency to stabilize the blood lactate during the exercise session. Serum corticosterone found in E group was significantly higher (59%;  $p < 0.05$ ) when compared to C group. There was no difference between free fatty acids (24%  $p = 0.109$ ), in the liver (8%;  $p = 0.575$ ) and in the gastrocnemius fatty acids content (17%;  $p = 0.219$ ). The glycogen in liver (42%;  $p < 0.05$ ) and soleus (56%;  $p < 0.05$ ) were different between groups. Lactate Dehydrogenase (LDH) and Creatine Kinase (CK) activities were significantly higher (LDH 32%; CK 27%;  $p < 0.05$ ) in the E than in the C group. The results suggest that this protocol is a high intensity exercise able to induce an increase in the lactate concentration at the beginning of exercise. Moreover, there were increases in indirect markers of muscle microtrauma in rats after a single exhaustive session. However, the lactate concentration was low, suggesting that the aerobic metabolism is an important factor during the intervals between the series of climbing.

Keywords: Resistance Exercise; Exercise Metabolism; LDH; CK; Corticosterone Hormone; Lactate; Glycogen.

## LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

acetilCoA .....	Acetil coenzima A
ADP .....	Difosfato de adenosina
AG.....	Ácido graxo
AGL.....	Ácido graxo livre
AMPc .....	Monofosfato de adenosina cíclico
ATP .....	Trifosfato de adenosina
Ca .....	Cálcio
CK.....	Creatina-kinase
CO <sub>2</sub> .....	Dióxido de carbono
FAD.....	Flavina adenina dinucleotídeo
H <sup>+</sup> .....	Hidrogênio
HIV .....	Human immunodeficiency virus
K <sup>+</sup> .....	Potássio
LDH.....	Lactato-desidrogenase
Na <sup>+</sup> .....	Sódio
NAD .....	Nicotinamida adenina dinucleotídeo
PCr.....	Fosfocreatina
P <sub>i</sub> .....	Fosfato inorgânico
RNAm .....	Ácido Ribonucleico mensageiro

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Eixo Hipotálamo-Hipófise-Adrenal .....	11
Figura 2 - Treinamento Resistido em Escada.....	16
Figura 3 - Lactato Sanguíneo .....	22
Figura 4 – Corticosterona .....	23
Figura 5 - Glicemia .....	23
Figura 6 - Glicogênio Gastrocnêmio .....	24
Figura 7 - Glicogênio Sóleo .....	25
Figura 8 - Glicogênio Bíceps.....	25
Figura 9 - Glicogênio Hepático .....	26
Figura 10 - AGL Muscular.....	26
Figura 11 - AGL Hepático .....	27
Figura 12 - AGL Plasmático.....	28
Figura 13 - Níveis Séricos de LDH .....	28
Figura 14 - Níveis Séricos de CK.....	29

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Peso Corporal e Carga Máxima.....	21
Tabela 2 – Peso dos tecidos.....	21

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	3
2.1 Bioenergética – Sistemas de energia.....	3
2.1.1 Sistema ATP-fosfocreatina .....	4
2.1.2 Sistema Glicolítico .....	5
2.1.3 Sistema Oxidativo.....	7
2.2 Controle Hormonal .....	8
2.2.1 Catecolaminas .....	9
2.2.2 Corticosterona .....	10
2.3 Lactato-desidrogenase e Creatina-kinase.....	12
3. OBJETIVOS.....	14
3.1 Geral: .....	14
3.2 Específico:.....	14
4. MATERIAIS E MÉTODOS .....	15
4.1 Animais e Condições Experimentais.....	15
4.2 Grupos Experimentais.....	15
4.3 Treino Resistido .....	16
4.4 Análise de Lactato.....	17
4.5 Análise de LDH e CK .....	17
4.6 Coleta de Sangue e Tecidos – Segundo Grupo de Ratos.....	18
4.7 Análise de Corticosterona .....	18
4.8 Glicemia .....	19
4.9 Análise de Glicogênio Muscular e Hepático .....	19
4.10 Análise de AGL Muscular, Hepático e Plasmático .....	19
4.11 Análise Estatística .....	20
5. RESULTADOS .....	21
5.1 Massa Corporal e Carga Máxima.....	21
5.2 Lactato .....	21
5.3 Corticosterona.....	22
5.4 Glicemia .....	23
5.5 Glicogênio no músculo Gastrocnêmio.....	23

5.6 Glicogênio no músculo Sóleo .....	24
5.7 Glicogênio no músculo bíceps .....	25
5.8 Glicogênio Hepático .....	25
5.9 AGL Muscular.....	26
5.10 AGL Hepático .....	27
5.11 AGL Plasmático.....	27
5.12 LDH e CK.....	28
6. DISCUSSÃO.....	30
7. CONCLUSÕES.....	35
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	36

## 1. INTRODUÇÃO

A utilização de índices fisiológicos para prescrição de treinamentos, tais como consumo máximo de oxigênio (Messonnier *et al.*, 2002; Garcia-Pallares *et al.*, 2009), limiar anaeróbio medido através do lactato sanguíneo (Voltarelli, Gobatto & De Mello, 2002) ou pela ventilação e percentual da frequência cardíaca máxima (Garcia-Pallares *et al.*, 2009) são comuns tanto na rotina de treinamento de atletas com em pesquisas com humanos e animais. Além disso, modelos experimentais que utilizam animais para verificar os efeitos agudos e crônicos do exercício físico, tem sido uma ferramenta de grande ajuda e são frequentemente usados na investigação de diversas questões. Neste sentido, os modelos mais usados geralmente são os exercícios de natação (Gobatto *et al.*, 2001; Contarteze *et al.*, 2008; Cambri *et al.*, 2011), corrida em esteira (Contarteze *et al.*, 2008; Ke *et al.*, 2011) e exercício voluntário em roda (Droste *et al.*, 2009; Miles *et al.*, 2009; Ke *et al.*, 2011).

Em relação ao treinamento resistido, alguns modelos para animais foram criados e são utilizados na tentativa de mimetizar o treinamento resistido em humanos (Renno *et al.*, 2007; Marqueti *et al.*, 2008; Aguiar *et al.*, 2010; Melo *et al.*, 2011). Entre eles, destaca-se o modelo realizado em escada, desenvolvido por Hornberger e Farrar (2004). Esses autores demonstraram que oito semanas de treinamento induziu a hipertrofia muscular esquelética em ratos Sprague-Dawley, sugerindo que esse protocolo pode imitar o treinamento resistido progressivo de humanos (Lee & Farrar, 2003; Hornberger & Farrar, 2004; Lee *et al.*, 2004). Após a escalada os animais descansam por 2 minutos em uma caixa no topo da escada. A cada série a carga é aumentada. A partir de então, vários outros trabalhos vem sendo realizados com esse protocolo, analisando diversos parâmetros diferentes (Lee *et al.*, 2004; Leite *et al.*, 2009; Prestes *et al.*, 2009; Harris *et al.*, 2010; Pereira *et al.*, 2010; Shiguemoto *et al.*, 2011).

O exercício resistido tem sido largamente estudado na última década, promovendo o conhecimento sobre seus efeitos fisiológicos agudos e crônicos (Stone, Plisk & Collins, 2002; Faigenbaum *et al.*, 2009; Ratamess *et al.*, 2009; Glover & Phillips, 2010). Dessa forma, as evidências tem confirmado os benefícios dessa

modalidade de exercício na melhora da *performance* de atletas (Aagaard & Andersen, 2010; Bogdanis *et al.*, 2011), na qualidade de vida (Lovell, Cuneo & Gass, 2009; Ratamess *et al.*, 2009; Lincoln *et al.*, 2011) e mais recentemente como ferramenta no tratamento de diferentes doenças, como doença cardiovascular (Vincent & Vincent, 2006), obesidade, síndrome metabólica, diabetes (Church, 2011) e pacientes portadores de HIV (Souza *et al.*, 2011).

Recentemente, nosso grupo de pesquisa evidenciou que oito semanas de treinamento resistido realizado em escada foi capaz de melhorar o estado inflamatório metabólico, reduzir a área de adipócito, e promover benefícios no perfil lipídico de Wistar ratos obesos (Speretta, 2011). Além disso, outros estudos demonstraram uma diminuição nos efeitos deletérios causados pela ovariectomia em fêmeas Wistar após dozes semanas de treinamento em escada (Leite *et al.*, 2009; Prestes *et al.*, 2009; Pereira *et al.*, 2010; Shiguemoto *et al.*, 2011) e melhoras na função endotelial em ratos idosos após seis semanas de treinamento também em escada (Harris *et al.*, 2010).

No entanto, não foram encontrados estudos que tenham analisado as alterações metabólicas agudas causadas durante este exercício. Dessa forma, o nosso objetivo foi examinar o comportamento agudo do metabolismo energético, analisando o lactato sanguíneo, a corticosterona, a glicemia, os estoques de glicogênio e os conteúdos de ácidos graxos (AG) e ácidos graxos livres (AGL), e as respostas agudas de biomarcadores indiretos de microlesão muscular como a lactato-desidrogenase (LDH) e a creatina-kinase (CK).

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Bioenergética – Sistemas de energia

Durante a realização de um exercício, o corpo passa por altas demandas metabólicas exigindo um número grande de ajustes fisiológicos. Portanto, a velocidade do uso de energia precisa aumentar, e os subprodutos metabólicos devem ser eliminados. As células devem converter os carboidratos, gorduras e proteínas em uma forma utilizável de energia (Wells, Selvadurai & Tein, 2009; Wilmore, Costill & Kenney, 2010).

Os seres humanos obtêm energia através das plantas ou animais ingeridos na alimentação. Cada célula possui diversas vias químicas capazes de converter os substratos vindos dos alimentos em energia, permitindo que essa energia possa ser utilizada pela própria célula ou por outras células do organismo. Esses processos são classificados como Bioenergética e as reações que o organismo realiza coletivamente são o metabolismo (Wells, Selvadurai & Tein, 2009; Wilmore, Costill & Kenney, 2010).

A energia fica disponível para ser utilizada quando as ligações químicas são desfeitas. Ou seja, os alimentos são decompostos em carbono, hidrogênio, oxigênio e nitrogênio. A energia nas ligações moleculares dos alimentos é liberada no interior das células e armazenada na forma de um composto energético denominado Trifosfato de Adenosina (ATP) (Wells, Selvadurai & Tein, 2009; Wilmore, Costill & Kenney, 2010).

O ATP é uma molécula formada por uma adenosina (molécula de adenina unida a uma molécula de ribose), combinada com três grupos de fosfato inorgânico ( $P_i$ ). No momento em que o ATP se combina com água (hidrolise), ela fica submetida à ação de uma enzima conhecida como ATPase. Então, o último grupo fosfato é separado do ATP, e isso libera grande quantidade de energia. No entanto, isso reduz o ATP em difosfato de adenosina (ADP) e uma molécula de  $P_i$  (Wells, Selvadurai & Tein, 2009; Wilmore, Costill & Kenney, 2010).

Quebra do ATP:  $ATP + \rightarrow ADP + P_i + \text{energia}$  (Wells, Selvadurai & Tein, 2009).

Para que um ATP seja gerado, um grupo fosfato deve ser adicionado a um ADP, em um processo chamado de fosforilação. Quando essas reações ocorrem sem que exista oxigênio presente, o processo é chamado de metabolismo anaeróbico. Na presença de oxigênio, temos o metabolismo aeróbico e a conversão do ADP em ATP é a fosforilação oxidativa. A geração de ATP ocorre por meio de três processos diferentes, o sistema ATP-fosfocreatina, sistema glicolítico (glicólise) e o sistema oxidativo (fosforilação oxidativa). A variação entre a utilização desses três sistemas está diretamente relacionada com a intensidade, duração e tipo do exercício praticado (Wells, Selvadurai & Tein, 2009; Wilmore, Costill & Kenney, 2010).

### **2.1.1 Sistema ATP-fosfocreatina**

O sistema mais simples entre os três citados acima é o ATP-fosfocreatina, que armazena pouca quantidade de ATP. As células contêm uma molécula de fosfato de alta energia chamada fosfocreatina (PCr). A energia liberada pela quebra da PCr não é utilizada de forma direta para o trabalho celular. Essa energia serve para a regeneração do ATP, a fim de que a reserva seja mantida relativamente constante. Dessa forma, essa energia é utilizada para ressíntese do ATP (Wilmore, Costill & Kenney, 2010).

A enzima responsável pela liberação da energia da PCr é a CK (França *et al.*, 2006; Brancaccio, Lippi & Maffulli, 2010). A energia liberada é utilizada na adição de um  $P_i$  a uma molécula de ADP, formando ATP. A utilização da PCr acontece imediatamente no início da contração, tendo como estímulo principal a elevação momentânea da concentração de ADP. Acredita-se que no exercício de alta intensidade com duração maior do que 20 segundos, o estoque de PCr muscular torna-se quase que completamente depletado, como consequência de a produção mitocondrial de ATP ser incapaz de combinar com a velocidade da quebra da fosfocreatina (Karatzafiri *et al.*, 2001). Então, durante os primeiros segundos de uma atividade muito intensa, como um tiro de velocidade, o ATP pode ser mantido

em um nível constante, no entanto, o nível de PCr cai continuamente. Dessa forma, a combinação de ATP e PCr é capaz de suprir as necessidades dos músculos durante 3 a 15 segundos em uma intensidade máxima de esforço. Um estudo de 2010 mostrou que durante uma série de exercícios resistidos com 10 repetições máximas, realizados por humanos, houve diminuição na produção de força associada com a diminuição da contribuição da PCr (Gorostiaga *et al.*, 2010).

### **2.1.2 Sistema Glicolítico**

Esse sistema energético envolve a liberação de energia através da quebra da glicose. Esse sistema utiliza a glicólise, que é a quebra de glicose através de uma via que envolve uma sequência de enzimas glicolíticas (Wilmore, Costill & Kenney, 2010).

A glicemia (glicose sanguínea) é composta da digestão dos carboidratos, da utilização do glicogênio hepático e também do processo conhecido como gliconeogênese. A gliconeogênese é a criação de glicose a partir de fontes não-glicose (lactato, piruvato, glicerol e aminoácidos) (Felber & Golay, 1995).

O glicogênio, que é a glicose armazenada nos músculos e no fígado, é formado a partir da glicose em um processo denominado glicogênese. A quebra do glicogênio é denominada glicogenólise. Para que essas substâncias possam ser utilizadas como fonte de energia é necessário que elas sejam convertidas em um composto denominado glicose-6-fosfato. Para isso, é necessário gasto energético, ou seja, utilização de ATP. Esse processo que leva a glicose até o ácido láctico envolve de 10 a 12 reações, sendo muito mais complexo que o sistema ATP-PCr (Wilmore, Costill & Kenney, 2010).

Todas as enzimas necessárias para esse processo encontram-se no citoplasma, e o ganho final equivale a 3 moles de ATP, que são formados a partir de um mol de glicogênio fracionado. Quando a glicose é utilizada ao invés do glicogênio, o ganho será de 2 moles de ATP, pois 1 mol será utilizado para converter a glicose em glicose-6-fosfato. Portanto, esse sistema também não é capaz de produzir grandes quantidades de ATP, mas a união dele com o sistema ATP-PCr permite a geração de força pelos músculos mesmo em condições de limitação de reserva de oxigênio. Dessa forma, esses sistemas são predominantes no início de

exercícios de alta intensidade (Wells, Selvadurai & Tein, 2009; Wilmore, Costill & Kenney, 2010).

Outro fator importante do sistema glicolítico é que ele pode ser considerado limitante, pois provoca o acúmulo de lactato nos líquidos corporais. A quebra da glicose (glicólise) gera um ácido chamado ácido pirúvico. Em condições de falta de oxigênio (anaerobiose), o ácido pirúvico é convertido em ácido láctico ( $C_3H_6O_3$ ), que quando sai da célula muscular perde um hidrogênio e se liga a um íon sódio ou potássio, formando o sal chamado lactato. Então, em exercícios de intensidade muito alta e curta duração (1 ou 2 minutos), o sistema glicolítico é altamente requisitado e, portanto, os níveis de lactato aumentam rapidamente. Esse processo deixa as fibras em um estado ácido, o que pode inibir a degradação do glicogênio, pois compromete a função das enzimas glicolíticas, como a enzima fosfofrutoquinase. Além disso, esse ácido diminui a capacidade do cálcio (Ca) se ligar nas fibras, podendo impedir a contração muscular (Wells, Selvadurai & Tein, 2009; Wilmore, Costill & Kenney, 2010).

Segundo Brooks (2009) o lactato pode ser considerado como uma molécula “lactahormônio”, pois possui ações autócrinas, parácrinas e endócrinas. Pode ser usado dentro das células onde é criado ou ainda transportado através dos vasos e do interstício adjacente e distribuído para utilização em outras células. É considerado, portanto, um importante precursor da gliconeogênese, além de ser uma forma de coordenação do metabolismo em vários tecidos, especialmente durante o exercício físico, quando ocorre uma estimulação simpática da glicogenólise muscular (Brooks, 2009; Wells, Selvadurai & Tein, 2009).

Atualmente, o lactato sanguíneo é utilizado como verificador das condições bioenergéticas do músculo (Brooks, 2000; Voltarelli, Gobatto & De Mello, 2002), uma vez que exercícios incrementais geralmente promovem um aumento exponencial nas concentrações de lactato sanguíneo (Faude, Kindermann & Meyer, 2009). Em um estudo com humanos, um protocolo de exercício resistido incremental foi capaz de promover aumento na taxa de lactato sanguíneo como normalmente ocorre durante testes de exercícios aeróbios incrementais (Simoes *et al.*, 2010).

Portanto, a análise do comportamento do lactato é uma ferramenta de grande importância que auxilia na determinação da intensidade do exercício sendo também usado para prescrever treinamentos em várias situações e condições (Gobatto *et al.*, 2001; Meyer *et al.*, 2005; Rynders *et al.*, 2011).

### 2.1.3 Sistema Oxidativo

Esse é o último sistema de produção de energia. Além disso, é o mais complexo dos três sistemas. É o processo através do qual o corpo quebra os combustíveis com auxílio do oxigênio, gerando energia através da respiração celular. Portanto, é considerado um processo aeróbio. Essa produção de energia (ATP) ocorre dentro das mitocôndrias, que nos músculos estão adjacentes às miofibrilas e também dispersas em todo o sarcoplasma (Wilmore, Costill & Kenney, 2010).

A oxidação dos carboidratos ocorre através da glicólise aeróbia, do ciclo de Krebs e da cadeia transportadora de elétrons. A presença de oxigênio na glicólise aeróbia determina o destino do produto final, ou seja, do ácido pirúvico, que é convertido em acetil coenzima A (acetilCoA). Então, a acetilCoA entra no ciclo de Krebs (ou ciclo do ácido cítrico), e após uma série de reações complexas, o acetilCoA é oxidado, formando dois moles de ATP e o carboidrato original é metabolizado em dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) e  $\text{H}^+$  (Wells, Selvadurai & Tein, 2009; Wilmore, Costill & Kenney, 2010).

Os  $\text{H}^+$  liberados durante a glicólise e o ciclo de Krebs se combinam com duas enzimas, a nicotinamida adenina dinucleotídeo (NAD) e a flavina adenina dinucleotídeo (FAD), que transportam o  $\text{H}^+$  para a cadeia transportadora de elétrons, e no final dessa cadeia, os íons  $\text{H}^+$  se combinam com oxigênio formando água, impedindo a acidificação das fibras (Wilmore, Costill & Kenney, 2010).

Uma molécula de glicogênio quando oxidada pode gerar de 37 a 39 moléculas de ATP. No entanto, a gordura também contribui de maneira importante para as necessidades musculares de energia. Para que possa ser utilizada, o triacilglicerol (molécula de gordura armazenada) deve ser catabolizado até uma molécula de glicerol e três moléculas de AGL. Esse processo é chamado de lipólise, e é realizado por enzimas como as lípases. Ao entrarem na fibra muscular, os AGLs são ativados por enzimas com a energia vinda do ATP, preparando-os para a degradação nas mitocôndrias. Esse catabolismo das gorduras pelas mitocôndrias é chamado de beta-oxidação. No entanto, a produção de energia a partir das gorduras exige mais oxigênio do que a oxidação dos carboidratos (Wells, Selvadurai & Tein, 2009; Wilmore, Costill & Kenney, 2010).

A beta oxidação gera mais moléculas de acetilCoA, e a partir daí o metabolismo das gorduras segue o mesmo caminho do metabolismo oxidativo dos carboidratos. A combinação da oxidação, ciclo de Krebs e da cadeia transportadora de elétrons é capaz de gerar 129 moléculas de ATP quando uma molécula de ácido palmítico (AGL com 16 carbonos) é utilizada (Wells, Selvadurai & Tein, 2009; Wilmore, Costill & Kenney, 2010).

## **2.2 Controle Hormonal**

No momento em que uma pessoa ou um animal inicia uma atividade física ocorre uma elevação do metabolismo. Isso acontece para que a quantidade necessária de energia seja disponibilizada para os movimentos. Dessa forma, os sistemas fisiológicos e bioquímicos precisam agir em conjunto, e para tanto, a comunicação entre os sistemas precisa ser efetiva. Grande parte dos ajustes ocorridos durante os exercícios são realizadas pelo sistema nervoso, que atua de forma rápida e localizada, com efeitos de curta duração (Wilmore, Costill & Kenney, 2010). O sistema nervoso pode atuar, por exemplo, regulando algumas variáveis como frequência cardíaca e a resistência vascular periférica auxiliando, portanto, a manutenção da pressão arterial (Dipla, Nassis & Vrabas, 2012).

O sistema endócrino funciona de forma lenta, no entanto, seus efeitos são mais prolongados em relação aos efeitos do sistema nervoso. Além disso, o sistema endócrino é capaz de atuar em todos os tecidos ou glândulas que secretam hormônios, que são os sinais químicos do corpo (Wilmore, Costill & Kenney, 2010).

Os hormônios podem ser divididos em três tipos: esteroides, proteicos e derivados do aminoácido tirosina, sendo os dois últimos chamados também de não-esteroides. Os esteroides possuem estrutura química semelhante ao colesterol, e a maioria deles é derivada do colesterol. Portanto, são classificados como lipossolúveis, com capacidade de se difundirem pelas membranas celulares. Por outro lado, os hormônios não-esteroides não são lipossolúveis, não atravessando a membrana celular (Wilmore, Costill & Kenney, 2010).

Após serem secretados por células endócrinas, os hormônios são transportados pelo sangue até células-alvo que possuem receptores específicos, podendo então controlar a atividade do tecido-alvo. Dessa forma, mesmo tendo

contato com todos os tecidos, os hormônios somente terão ações nos tecidos com os receptores específicos para ele. Os receptores para hormônios não-esteroides ficam localizados na membrana da célula. Após a ligação do hormônio nesse receptor, ocorre o disparo de uma série de reações enzimáticas, formando um segundo mensageiro intracelular (exemplo: monofosfato de adenosina cíclico ou AMPc). Por outro lado, os receptores para hormônios esteroides estão no citoplasma ou no núcleo celular. Uma vez ligado aos receptores intracelulares, o complexo hormônio-receptor entra no núcleo da célula, liga-se à parte do DNA ativando certos genes. Então ocorre a síntese de Ácido Ribonucleico mensageiro (RNAm) no interior do núcleo, que passa para o citoplasma e da origem a síntese de proteínas (Wilmore, Costill & Kenney, 2010).

Portanto, os sistemas nervoso e endócrino atuam em harmonia, iniciando e controlando os processos fisiológicos durante o exercício (Wilmore, Costill & Kenney, 2010).

### **2.2.1 Catecolaminas**

As glândulas supra-renais, que se encontram sobre cada rim, são compostas pela medula (internamente) e pelo córtex (externamente). Cada uma dessas partes secreta hormônios diferentes, sendo que a medula secreta a epinefrina (adrenalina) e a norepinefrina (noradrenalina) que são catecolaminas. A medula supra-renal é estimulada pelo sistema nervoso simpático e as catecolaminas possuem efeitos semelhantes às ações do sistema nervoso simpático, preparando o corpo para ações imediatas, promovendo a reposta de “lutar ou fugir”, aumentando a frequência cardíaca, a força de contração muscular, a taxa metabólica, a glicogenólise no fígado e nos músculos, aumento da liberação de glicose e de AGLs no plasma, a pressão arterial e a respiração (Wilmore, Costill & Kenney, 2010).

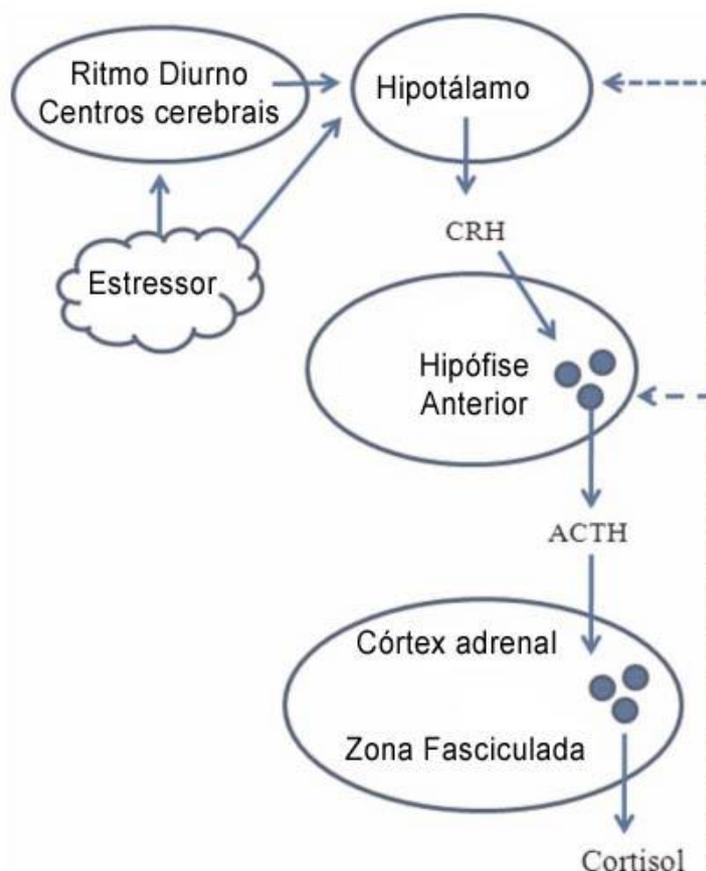
A quebra dos estoques de glicogênio muscular depende da ação das catecolaminas. Nesses músculos a quebra do glicogênio ocorre através da fosforilase do glicogênio, que degrada o glicogênio em glicose-1-fosfato. Isso pode ocorrer de duas formas, sendo a primeira através de uma forma cataliticamente ativa, chamada fosforilase a, e uma forma muitas vezes inativa, a fosforilase b, que predomina nos músculos em repouso. A velocidade de quebra depende do valor da

relação entre a fosforilase ativa e inativa, que é ajustada pela ação de hormônios como a adrenalina (Lehninger, Nelson & Cox, 2006). Muitos fatores contribuem para a liberação de adrenalina e noradrenalina, como estresse psicológico e o exercício. Por exemplo, a concentração plasmática de glicose geralmente aumenta, pois além do glucagon, a atividade muscular aumenta a velocidade de liberação das catecolaminas (Wilmore, Costill & Kenney, 2010).

### **2.2.2 Corticosterona**

O córtex supra-renal é capaz de secretar mais de 30 hormônios chamados de corticosteroides, que podem ser divididos em mineralocorticoides, glicocorticoides e gonadocorticoides. Os glicocorticoides são essenciais para a adaptação às mudanças externas e ao estresse (Wilmore, Costill & Kenney, 2010) modulando até as funções reprodutivas através da interferência no eixo hipotálamo-hipófise-gônadas (Andersen *et al.*, 2004).

O hormônio ACTH secretado pelo hipotálamo é o principal responsável pela secreção de corticosterona pelas glândulas adrenais (Contarteze *et al.*, 2008). Além disso, diversas situações disparam respostas da glândula adrenal, o que acaba resultando em um aumento nos níveis sanguíneos de catecolaminas e glicocorticoides. Esse aumento pode ser entendido como o primeiro mecanismo endócrino que age para defender o organismo contra condições de estresse (Mostl & Palme, 2002).



**Figura 1. Eixo Hipotálamo-Hipófise-Adrenal**

Regulação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal em relação aos níveis plasmáticos de cortisol (corticosterona). Fonte: modificado de Hayes, Bickerstaff & Baker (2010).

O cortisol é um hormônio com características catabólicas, pois promove a proteólise e a lipólise, o que por sua vez promove a mobilização de ácidos graxos livres (AGL) das reservas de gordura para os tecidos ativos durante o exercício e contribui para a gliconeogênese hepática e aumento da glicemia (França *et al.*, 2006; Vale *et al.*, 2009; Wilmore, Costill & Kenney, 2010). Estudos com protocolos de exercícios para animais mostram que existe um aumento significativo na concentração de corticosterona após a realização de uma sessão de exercício resistido (Rogatto *et al.*, 2004; Ebal *et al.*, 2007) e também após exercícios aeróbios (Contarteze *et al.*, 2008).

A ativação aguda do sistema hormonal pode promover alterações que melhoram a capacidade do organismo para ajustar a homeostase. No entanto, longos períodos de secreção de corticosteroides podem ser prejudiciais para a saúde (Mostl & Palme, 2002).

### 2.3 Lactato-desidrogenase e Creatina-kinase

Existem várias formas indiretas utilizadas atualmente para avaliar dano ou a lesão muscular. Os mais comuns são: Dor muscular de início tardio; Circunferência do membro; Força muscular; Marcadores indiretos da quebra de colágeno; Frequência média do sinal eletro-miográfico; LDH e CK (Brentano & Martins Krueel, 2011), tanto em animais (Tamaki *et al.*, 2000; Tamaki *et al.*, 2001; Malaguti *et al.*, 2009) como em humanos (Cooke *et al.*, 2009; Cooke *et al.*, 2010; Machado & Willardson, 2010; Evangelista *et al.*, 2011; Machado, Koch, *et al.*, 2011; Machado, Zini, *et al.*, 2011).

A LDH é uma enzima oxidoreductase que atua catalisando a redução do piruvato para lactato, e para isso utiliza o NADH como doador de elétrons (França *et al.*, 2006; Brancaccio, Lippi & Maffulli, 2010). Essa reação é o último passo da glicólise nas fibras brancas e está presente no citoplasma de praticamente todas as células em diferentes isoformas (França *et al.*, 2006).

Já a CK é uma enzima transferase, que atua catalisando a fosforilação da creatina pelo trifosfato de adenosina (ATP) formando fosfocreatina (França *et al.*, 2006; Brancaccio, Lippi & Maffulli, 2010). Essa reação armazena energia do ATP no tecido muscular e no cérebro em forma de fosfocreatina e permite que a concentração muscular de ATP se mantenha constante durante o início dos exercícios. A creatina é uma fonte de energia para a contração muscular e é caracterizada como um aminoácido formado pela metilação do ácido guanidinoacético que ocorre em tecidos de vertebrados (França *et al.*, 2006).

Estudos dizem que o aparecimento de enzimas em altas concentrações plasmáticas está diretamente ligado com estado de necrose celular e lesão tecidual após uma única sessão de exercícios. Essas situações podem ser causadas tanto por estímulos mecânicos quanto metabólicos, ou seja, pode acontecer após a degeneração mecânica e rompimento de sarcômeros através da fragmentação da linha Z, ou ainda devido a um aumento nos íons cálcio livres que podem promover a ativação dos canais de potássio, levando a um aumento na permeabilidade da membrana (Brancaccio, Maffulli & Limongelli, 2007; Mougios, 2007; Brancaccio,

Lippi & Maffulli, 2010; Machado, Zini, *et al.*, 2011). Em situações onde o exercício praticado fica dentro de uma faixa normal do metabolismo, o tecido muscular é capaz de realizar o exercício sem sofrer alterações na permeabilidade de sua membrana. No entanto, caso a intensidade ultrapasse essa taxa de normalidade, mudanças ocorrem na permeabilidade da membrana e enzimas, como a LDH e a CK são liberadas na circulação (Bijsterbosch *et al.*, 1985).

Mougios (2007) sugere que os níveis de CK podem auxiliar na monitoração da adaptação do sistema muscular em exercícios com séries múltiplas, enquanto Machado e colaboradores (2011) consideram a CK uma ferramenta importante na predição de overtraining e/ou lesão muscular.

Outro ponto importante é em relação ao tipo de movimento realizado nos exercícios. Alguns estudos afirmam que os exercícios excêntricos são capazes de promover mais dano muscular, quando comparado aos os exercícios concêntricos (Proske & Morgan, 2001; Jamurtas *et al.*, 2005; Paschalis *et al.*, 2005).

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1 Geral:**

Este trabalho teve como objetivo verificar o comportamento do metabolismo energético durante a atividade e analisar se uma única sessão de exercício realizado em escada é capaz de causar dano muscular.

#### **3.2 Específico:**

- Analisar o comportamento do Lactato durante o exercício;
- Analisar a Glicemia logo após o exercício;
- Analisar o Glicogênio Muscular e Hepático após o exercício;
- Analisar os Ácidos Graxos Livres logo após o exercício;
- Analisar o comportamento da Corticosterona logo após o exercício;
- Verificar as alterações nas concentrações séricas de LDH logo após o exercício;
- Verificar as alterações nas concentrações séricas de CK logo após o exercício;

## 4. MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 Animais e Condições Experimentais

Para o desenvolvimento deste trabalho foram utilizados 50 ratos machos adultos, com 90 dias, da linhagem Wistar, provenientes do Biotério Central da Universidade Federal de São Carlos (UFSCar). Os ratos foram mantidos em gaiolas coletivas (5 por caixa) e permaneceram no Biotério do Laboratório de Nutrição e Metabolismo Aplicados ao Exercício desta universidade em temperatura ambiente entre 22 e 24°C e com luz controlada em ciclo de 12 h (claro/escuro). A água e a alimentação foram administradas *ad libitum*. O experimento foi conduzido de acordo com os princípios internacionais de ética na experimentação animal (National Research Council (Us) Board on Biology, 1998) e todo esforço foi feito para minimizar o desconforto dos animais durante o estudo. Todos os procedimentos foram aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da UFSCar (Protocolo nº 009/2011).

### 4.2 Grupos Experimentais

Os ratos foram distribuídos randomicamente em dois grupos experimentais: (i) Exercício Resistido (ER) (trinta animais); (ii): Controle (C) (vinte animais). Os animais do grupo controle não foram submetidos a nenhum tipo de exercício. Os animais do grupo exercitado realizaram uma única sessão de exercício resistido em escada.

Primeiramente, foram utilizados 30 animais, sendo 20 no grupo ER e 10 no grupo C. Dos animais do grupo ER, os 20 foram usados para as análises de Lactato e 10 foram usados para as análises de LDH e CK. No grupo controle os 10 animais foram utilizados para as análises de LDH e CK.

Com o intuito de diminuir o estresse dos animais, nas análises de glicogênio, ácidos graxos livres e corticosterona foram utilizados os outros animais, sendo 10 no grupo ER e dez no grupo C.

Todos os procedimentos de manipulação foram realizados entre às 09:00 hs e às 11:00 hs.

### 4.3 Treino Resistido

O protocolo de treinamento foi adaptado de Horberger e Farrar (2004). Primeiramente, os ratos foram familiarizados ao protocolo de treino resistido, que consiste em subidas em uma escada (1,1 x 0,18m, 2 cm espaço entre os degraus, 80° de inclinação) com uma carga de aparatos fixada em suas caudas (figura 1). Devido ao tamanho da escada os animais realizavam de 8 a 12 movimentos por escalada. O aparato fixado na cauda consistiu de frascos cônicos plásticos com pesos de chumbo, presos a uma fita adesiva.



Figura 2 - Treinamento Resistido em Escada

O aparato foi fixado à cauda dos animais envolvendo a parcela proximal da mesma com uma tira autoadesiva (1,5 cm, 3M® Tartan). Os ratos foram colocados na parte inferior da escada e adaptados com o ato de escalar. Inicialmente, foram motivados a escalar aplicando-se em sua cauda um estímulo manual para iniciar o movimento. No topo da escada, existe uma gaiola (20 x 20 x 20 cm) onde o animal descansa por 120 segundos entre cada série. Este procedimento foi repetido até que os ratos subissem voluntariamente a escada, três vezes consecutivas, sem a necessidade do incentivo na cauda.

Três dias após a familiarização com a escada (dois dias de descanso e a sessão realizada no terceiro dia) foi realizado o exercício. A primeira sessão foi realizada para determinação da carga máxima, onde os animais escalaram as escadas de 4-8 vezes carregando progressivamente cargas mais pesadas. Na escalada inicial o peso aplicado foi de 75% do peso corporal do animal. Após completar o carregamento desta carga com sucesso, um peso adicional de 30 gramas foi adicionado ao aparato. Este procedimento foi sucessivamente repetido até que a carga alcançou um peso que não permitia que o rato conseguisse escalar. Quando o animal não podia subir após 3 estímulos consecutivos em sua cauda, foi determinada sua carga máxima e encerrada a sessão de adaptação.

A sessão de exercícios, realizada 3 dias após a adaptação, consistiu de 4 escaladas com 50%, 75%, 90 e 100% da carga máxima carregada na sessão anterior, usada para determinação da carga máxima. Durante as subidas subsequentes, uma carga adicional de 30 gramas foi adicionada até que o rato não conseguisse mais escalar ou completasse 9 escaladas.

#### **4.4 Análise de Lactato**

Amostras de sangue (25 µl) foram coletadas de um corte na ponta da cauda no repouso (rep), após cada escalada e na recuperação (rec) que ocorreu cinco minutos após a última subida. As amostras foram imediatamente depositadas em um tubo Eppendorf (1,5 ml) contendo 50 µl de fluoreto de sódio (1%). As concentrações de lactato foram determinadas em um analisador de lactato (YSI modelo 1500 SPORT).

#### **4.5 Análise de LDH e CK**

Dez minutos após a última escalada, uma amostra de sangue (200 µl) foi coletada com o animal em repouso através de um corte na ponta da cauda, para análise de LDH e CK.

Os níveis séricos de LDH foram analisados em amostra de plasma por método de espectrofotômetro baseado na redução do piruvato para ácido láctico acoplado a oxidação do NADH como relatado por Korkeniewski e Callewart (1983).

A diminuição na absorvância em 340 nm foi monitorada em 37° C. Os dados são apresentados em U/ml de plasma.

Uma unidade de LDH ativa é definida como a quantidade de enzimas que catalisam a redução de 1,0  $\mu\text{mol}$  de piruvato para D-lactato por minuto em um pH de 7,0 a 25° C.

Os níveis séricos de CK foram analisados em amostra de plasma por espectrofotômetro baseado na fosforilação de ADP para ATP acoplado pela redução de NADP para NADPH, catalisado pela glicose-6-fosfato desidrogenase. O aumento na absorvância em 340 nm foi monitorado em 30° C como relatado por Noda, Nihei e Morales (1960). Os dados são apresentados em U/ml de plasma.

Uma unidade de CK ativa é definida como a quantidade de enzima que transfere 1,0  $\mu\text{mol}$  de fosfato da fosfocreatina para ADP por minuto em um pH de 7,4 a 30° C.

#### **4.6 Coleta de Sangue e Tecidos – Segundo Grupo de Ratos**

Logo após a última escalada, os animais foram sacrificados por decapitação. O sangue do tronco foi coletado em tubos heparinizados, centrifugados e o plasma foi separado em três tubos, onde os dois primeiros foram armazenados em freezer -20° C e o terceiro armazenado em freezer -80° C até o dia das análises.

Os tecidos gastrocnêmios, sóleo, bíceps e o fígado foram retirados, pesados e armazenados em freezer -20° C para posterior análise.

#### **4.7 Análise de Corticosterona**

A dosagem de corticosterona foi feita através do kit Cayman Chemical n° 500655, que é um ensaio de competição entre a corticosterona livre e a corticosterona conjugada à acetilcolinesterase (corticosterona marcada). Preparou-se uma curva padrão com concentração conhecida de corticosterona e as amostras foram diluídas. As dosagens foram feitas em triplicata em placa de 96 poços.

A placa possuía um pré-revestimento com anti-soro específico rabbit IgG e foram bloqueados com proteínas específicas fornecidas pelo kit. A placa foi incubada com a corticosterona marcada, anti-soro e a amostra, por duas horas em

temperatura ambiente em um *shaker* orbital. Após isso, a placa foi lavada para remoção dos reagentes não ligados.

Após a revelação (reagente de *Ellman's* por 90 minutos), leu-se a absorbância em 405 nm no aparelho Dynex MRX TC Revelation Microplate Reader. Então, foi calculada a absorbância média das triplicatas e a partir da curva padrão obteve-se a concentração das amostras.

#### **4.8 Glicemia**

Para determinar a concentração plasmática de glicose foi utilizado um glicosímetro da marca Accu-Cheik Active. A coleta foi feita logo após o sacrifício.

#### **4.9 Análise de Glicogênio Muscular e Hepático**

As determinações de glicogênio foram realizadas como descrito por Bidinotto e colaboradores (1997). Os tecidos foram descongelados e alíquotas de 100 mg foram separadas em tubos de ensaio com 1 ml de KOH 6N e levados ao banho fervente por 5 minutos. Logo após os tubos foram agitados levemente para dissolução completa dos tecidos e 200 µl do extrato foram transferidos para outro tubo.

Neste tubo foram adicionados 3 ml de Etanol P.A. e então, o tubo foi agitado por 30 segundos em vórtex. Depois, 100 µl de K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 10% foram adicionados e o tubo foi novamente agitado no vórtex por 30 segundos. Logo após os tubos foram centrifugados a 3000 RPM durante 3 minutos. Então, 2,5 ml de água destilada foram adicionados e o tubo foi novamente agitado no vórtex, até a diluição total do *pellet*.

Após isso, foram adicionados 500 µl de fenol e 2 ml de ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>). A concentração de açúcar foi estimada em uma concentração padrão de glicose 1mM e a amostra foi lida em espectrofotômetro com uma absorbância de 480 nm.

#### **4.10 Análise de AGL Muscular, Hepático e Plasmático**

Os níveis de AGL foram estimados de acordo com Novák (1965). Nos homogeneizados dos tecidos fígado e músculo e no plasma foram adicionados 1 ml de água destilada. Então, os tubos foram centrifugados por 3 minutos a 12000 RPM.

O sobrenadante foi descartado por inversão e 1 ml de solução Dole (heptana, álcool isopropílico e ácido sulfúrico 1N na proporção de 1:4:0,1) foi adicionado aos tubos, seguido de agitação por 20 segundos em vórtex. Posteriormente foram adicionados 1 ml de heptano e 1 ml de água destilada em cada tubo, agitando-se por inversão lentamente durante 20 segundos e então centrifugada por 3 minutos a 3000 RPM. Após isso, 600 µl foram transferidos para outro tubo e adicionado a uma mistura de clorofórmio e heptano (5:1 v/v), e 1,0 mL de reagente de cobalto, constituído por 1,32 volumes de trietanolamina + 10 volumes de solução A (solução saturada de K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 6g de nitrato de cobalto e 0,8 mL de ácido acético glacial) + 7 volumes da solução B (solução saturada de Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>). O tubo foi então agitado por 30 segundos em vórtex e novamente centrifugado por 3 minutos a 3000 RPM.

Por fim, 600 µl foram transferidos para outro tubo e 600 µl da solução Indicadora (solução de 0,4% de  $\alpha$ -nitroso- $\beta$ -naftol em etanol 96°GL, diluída 12,5 vezes) foram pipetados nas amostras. Após 15 minutos, as amostras foram lidas em espectrofotômetro em 500 nM de absorbância contra um padrão de ácido palmítico 0,4 mM.

#### **4.11 Análise Estatística**

Todos os resultados são apresentados em média  $\pm$  erro padrão da média (EPM). A análise estatística foi inicialmente feita por teste de normalidade de Kolmogorov-Smirnov e teste de homocedasticidade (critério de Barlett). O test-t independente foi usado para comparar o grupo RT com o grupo C com auxílio do programa *GraphPad Prism 5* e os valores  $< 0,05$  foram considerados como significativamente diferentes.

## 5. RESULTADOS

### 5.1 Massa Corporal e Carga Máxima

A tabela 1 mostra os valores dos pesos corporais e a carga máxima carregada pelo grupo exercitado. Não houve diferença significativa entre o peso corporal dos animais ( $p=0,714$ ) nos dois grupos.

Em relação ao peso dos tecidos, não foram encontradas diferenças significativas entre o peso do fígado ( $p=0,057$ ), do músculo bíceps ( $p=0,169$ ), do músculo sóleo ( $p=0,173$ ) e do músculo gastrocnêmio ( $p=0,112$ ).

**Tabela 1 - Peso Corporal e Carga Máxima**

	Peso Corporal (g)	Carga Máxima (g)
C	351,62 ± 7,75	-
ER	350,10 ± 8,10	436,95 ± 12,16

Todos os valores são apresentados como média ± erro padrão da média; C, grupo controle (n=20); ER, Exercício Resistido (n=30);

**Tabela 2 – Peso dos tecidos**

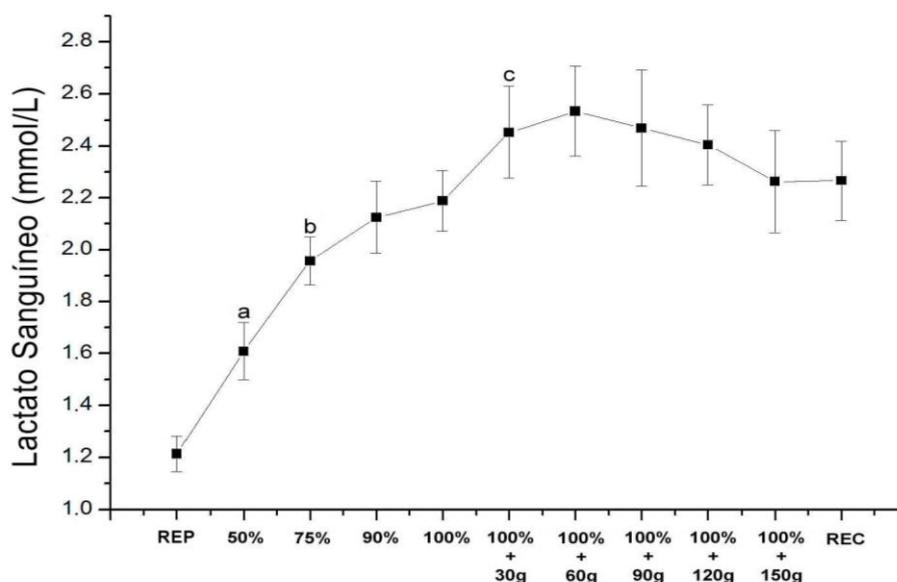
	Peso do fígado (g)	Peso do Bíceps (g)	Peso do sóleo (g)	Peso do Gastrocnêmio (g)
<b>C</b>	13,62 ± 0,49	0,202 ± 0,01	0,169 ± 0,07	2,09 ± 0,09
<b>ER</b>	12,75 ± 0,56	0,189 ± 0,006	0,163 ± 0,05	2,09 ± 0,04

Todos os valores são apresentados como média ± erro padrão da média; C, grupo controle (n=20); ER, Exercício Resistido (n=30);

### 5.2 Lactato

Os animais apresentam um significativo aumento no lactato sanguíneo nas duas primeiras escaladas, com as cargas de 50% e 75% da carga máxima.

Nenhuma diferença significativa foi encontrada nas duas escaladas subsequentes, com as cargas de 90% e 100%. Na quinta escalada com 100%+30g de carga houve um aumento significativo quando comparado com a carga de 100%. Nas escaladas seguintes não houve diferença no lactato sanguíneo, inclusive após 120 segundos de recuperação, como mostra a figura 3.

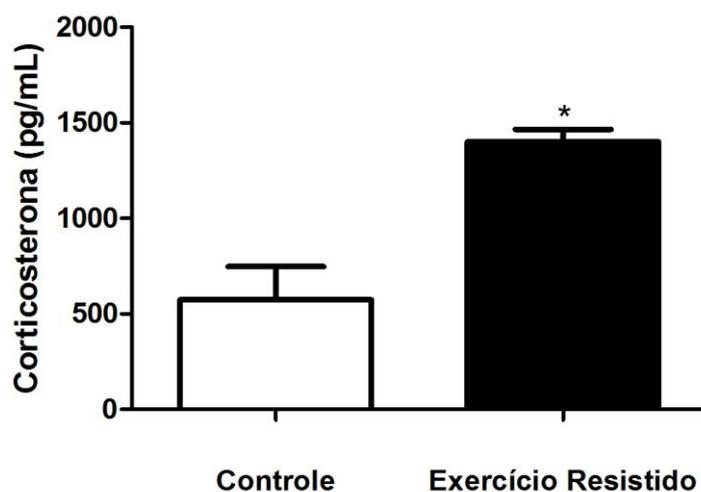


**Figura 3 - Lactato Sanguíneo**

Concentrações de Lactato Sanguíneo dos ratos durante o exercício resistido com cargas correspondentes ao Repouso (REP n=20), 50% (n=20), 75% (n=20), 90% (n=20), 100% (n=20), 100%+30g (n=20), 100%+60g (n=19), 100%+90g (n=15), 100%+120g (n=11), 100%+150g (n=10) e Recuperação (REC n=20). Todos os valores são apresentados como média  $\pm$  EPM  $p < 0,05$ .

### 5.3 Corticosterona

As concentrações plasmáticas de corticosterona encontradas no grupo ER ( $1404,02 \pm 65,01$ ) foram maiores significativamente ( $p < 0,05$ ) quando comparadas as do grupo C ( $574,09 \pm 173,24$ ).

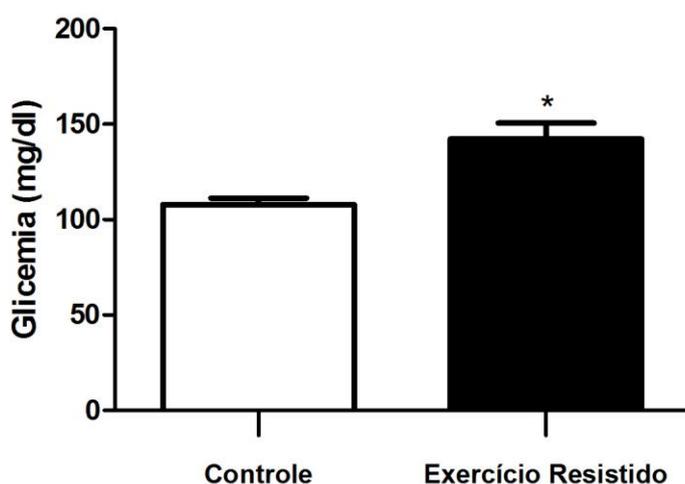


**Figura 4 – Corticosterona**

Concentrações de corticosterona após uma sessão de exercício em escada. Cada barra representa a média  $\pm$  EPM de 10 ratos.  $p < 0,05$ .

#### 5.4 Glicemia

A glicemia foi significativamente maior ( $p < 0,05$ ) no grupo ER ( $142,3 \pm 8,34$ ) quando comparada ao grupo C ( $107,9 \pm 3,33$ ) como mostra a figura 5.

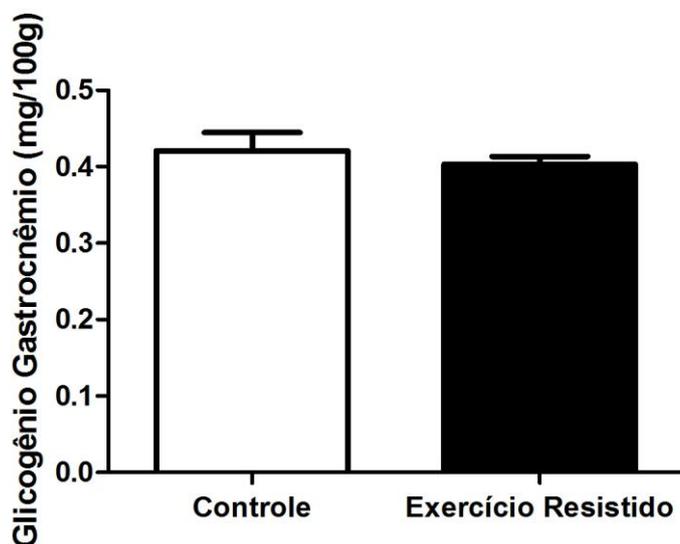


**Figura 5 - Glicemia**

Glicemia após uma sessão de exercício em escada. Cada barra representa a média  $\pm$  EPM de 10 ratos.  $p < 0,05$ .

#### 5.5 Glicogênio no músculo Gastrocnêmio

O conteúdo de glicogênio no músculo gastrocnêmio não foi diferente significativamente ( $p=0,556$ ) entre os grupos ER ( $0,40 \pm 0,01$ ) e C ( $0,42 \pm 0,02$ ) (figura 6).

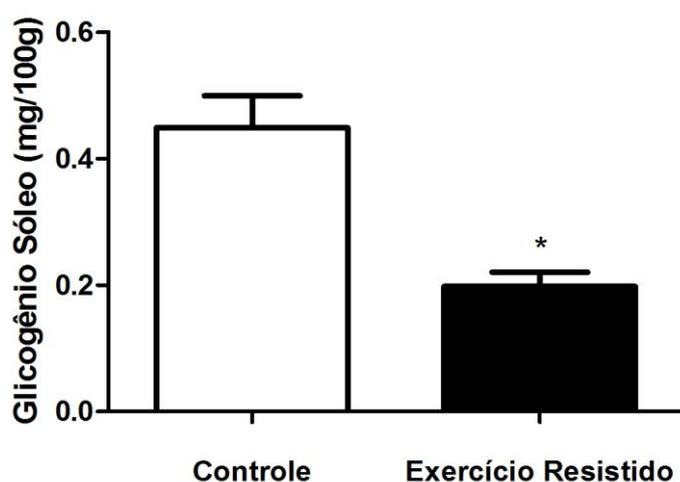


**Figura 6 - Glicogênio Gastrocnêmio**

Glicogênio do músculo gastrocnêmio após uma sessão de exercício em escada. Cada barra representa a média  $\pm$  EPM de 10 ratos.  $p=0,556$ .

## 5.6 Glicogênio no músculo Sóleo

O conteúdo de glicogênio no músculo sóleo foi significativamente menor ( $p<0,05$ ) no grupo ER ( $0,20 \pm 0,02$ ) quando comparado ao grupo C ( $0,45 \pm 0,05$ ) (figura 7).

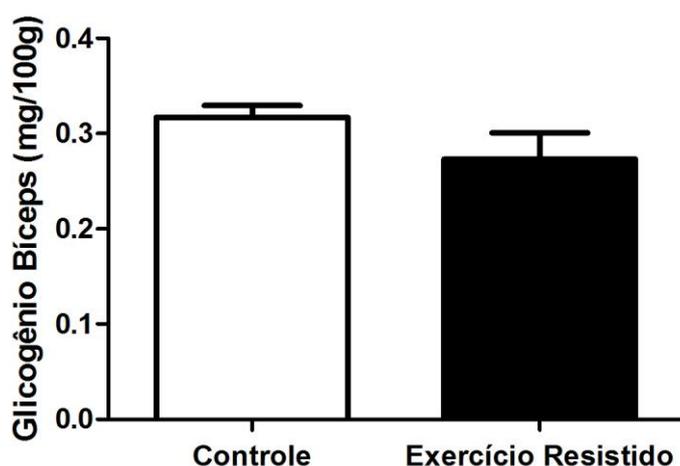


**Figura 7 - Glicogênio Sóleo**

Glicogênio no músculo sóleo após uma sessão de exercício em escada. Cada barra representa a média  $\pm$  EPM de 10 ratos.  $p < 0,05$ .

### 5.7 Glicogênio no músculo bíceps

Não houve diferença estatística ( $p = 0,272$ ) entre o glicogênio no músculo bíceps dos grupos ER ( $0,27 \pm 0,02$ ) e C ( $0,32 \pm 0,01$ ) como mostra a figura 8.

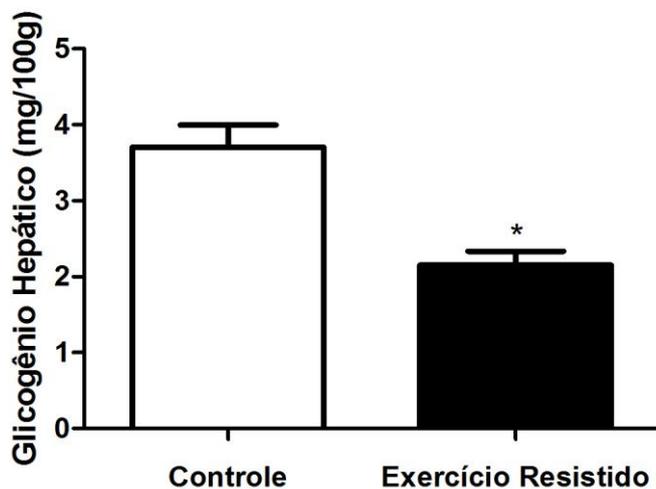


**Figura 8 - Glicogênio Bíceps**

Glicogênio no músculo Bíceps após uma sessão de exercício em escada. Cada barra representa a média  $\pm$  EPM de 10 ratos.  $p = 0,272$ .

### 5.8 Glicogênio Hepático

O conteúdo de glicogênio hepático foi significativamente menor ( $p < 0,05$ ) no grupo ER ( $2,15 \pm 0,18$ ) quando comparado com o grupo C ( $3,71 \pm 0,29$ ) (figura 9).

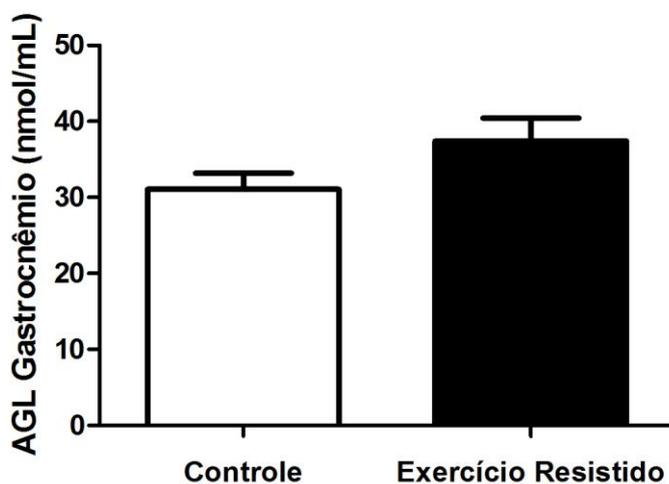


**Figura 9 - Glicogênio Hepático**

Glicogênio hepático após uma sessão de exercício em escada. Cada barra representa a média  $\pm$  EPM de 10 ratos.  $p < 0,05$ .

## 5.9 AGL Muscular

A figura 10 mostra os resultados correspondentes às concentrações de AGL no músculo gastrocnêmio. Não houve diferença significativa ( $p = 0,219$ ) entre os grupos ER ( $37,38 \pm 2,90$ ) e C ( $31,08 \pm 1,98$ ).



**Figura 10 - AGL Muscular**

AGL no músculo gastrocnêmio após uma sessão de exercício em escada. Cada barra representa a média  $\pm$  EPM de 10 ratos.  $p=0,219$ .

### 5.10 AGL Hepático

A figura 11 corresponde aos resultados das concentrações de AGL no fígado. Não foram encontradas diferenças significativas ( $p=0,575$ ) entre os grupos ER ( $620,50 \pm 43,52$ ) e C ( $572,75 \pm 47,35$ ).

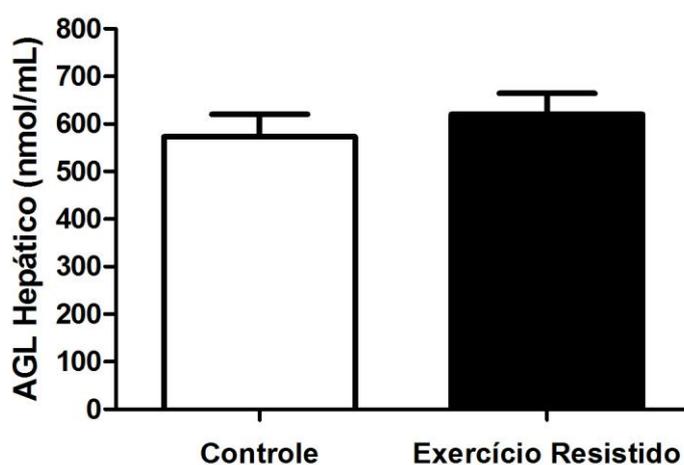
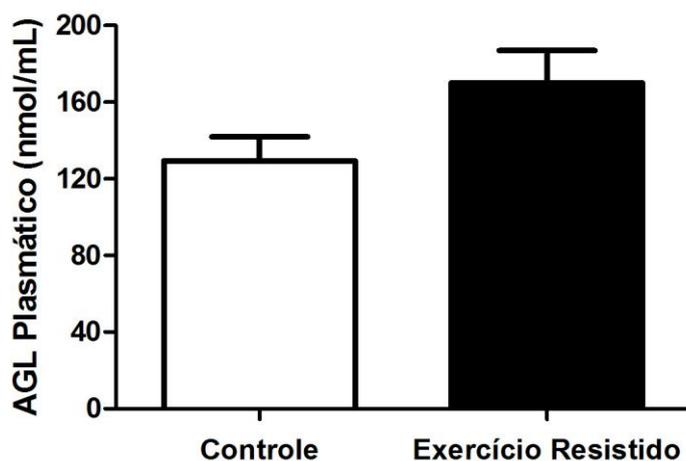


Figura 11 - AGL Hepático

AGL Hepático após uma sessão de exercício em escada. Cada barra representa a média  $\pm$  EPM de 10 ratos.  $p=0,575$ .

### 5.11 AGL Plasmático

Apesar de um alto valor nas concentrações de AGL plasmático no grupo ER ( $170,12 \pm 15,93$ ), não foram encontradas diferenças significativas ( $p=0,109$ ) quando comparado ao grupo C ( $129,46 \pm 11,77$ ), como mostra a figura 12.



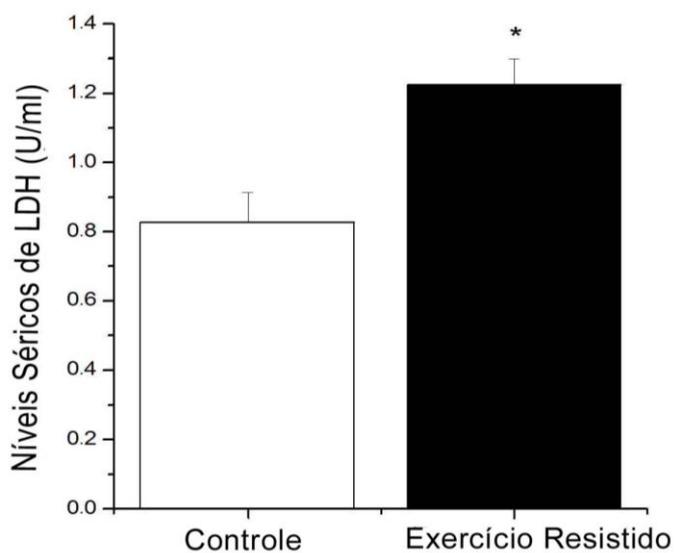
**Figura 12 - AGL Plasmático**

AGL Plasmático após uma sessão de exercício em escada. Cada barra representa a média  $\pm$  EPM de 10 ratos.  $p=0,109$ .

## 5.12 LDH e CK

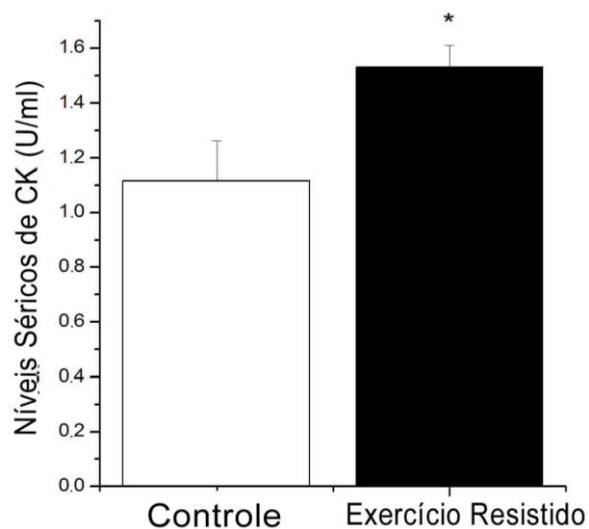
Os níveis séricos de LDH após a única sessão de exercício foram significativamente maiores ( $p<0,05$ ) no grupo ER ( $1,225 \pm 0,074$ ) quando comparados ao grupo C ( $0,827 \pm 0,08$ ), como mostra a figura 13.

Os níveis séricos de CK também foram significativamente maiores ( $p<0,05$ ) no grupo ER ( $1,533 \pm 0,076$ ) quando comparados ao grupo C ( $1,116 \pm 0,147$ ) (figura 14).



**Figura 13 - Níveis Séricos de LDH**

Níveis Séricos de Lactato-Desidrogenase (LDH) após uma sessão de exercício em escada. Cada barra representa a média  $\pm$  EPM de 10 ratos.  $p < 0,05$ .



**Figura 14 - Níveis Séricos de CK**

Níveis Séricos de Creatina-kinase (CK) após uma sessão de exercício em escada. Cada barra representa a média  $\pm$  EPM de 10 ratos.  $p < 0,05$ .

## 6. DISCUSSÃO

O presente estudo teve como objetivo investigar os efeitos agudos após uma sessão de exercício resistido em escada. Os resultados sugerem que o protocolo de exercício resistido em escada é predominantemente anaeróbio e de alta intensidade. O acúmulo de lactato no início da sessão de exercício, o aumento plasmático de marcadores de microtrauma muscular, principalmente CK e a redução significativa de glicogênio muscular sustentam esta hipótese. Em contrapartida, a recuperação entre as escaladas parece ter predominância do metabolismo aeróbio, uma vez que houve estabilização do lactato após algumas séries, sugerindo que os 120 segundos de recuperação são suficientes para a remoção do lactato através da oxidação no coração e nos músculos esqueléticos.

No presente estudo, o exercício resistido causou um aumento significativo na concentração de lactato sanguíneo nas primeiras séries do exercício. No entanto, mesmo com o aumento da carga após cada série, houve uma tendência para estabilização do lactato sanguíneo durante a sessão, sugerindo que existiu um equilíbrio entre a produção e a eliminação de lactato (Gobatto *et al.*, 2001).

Esses resultados contrastam com estudos anteriores. É largamente aceito que normalmente exercícios incrementais promovem um exponencial aumento na taxa de concentração de lactato sanguíneo (Faude, Kindermann & Meyer, 2009). Além disso, outros achados demonstraram em humanos que um protocolo de exercício resistido incremental foi capaz de promover aumento na taxa de lactato sanguíneo (Simoes *et al.*, 2010; De Sousa *et al.*, 2011).

Evidências indicam que variações das taxas de trabalhos incrementais podem levar a relevantes diferenças nas curvas de lactato sanguíneo e a possível razão para isso pode ser o tempo existente para a difusão do lactato no sangue sobre a próxima taxa incremental (Faude, Kindermann & Meyer, 2009). Nesse sentido, as diferenças encontradas no presente estudo pode ser explicada pelo fato de que, na nossa pesquisa, a relação esforço/pausa foi de 1:12, devido aos esforços de aproximadamente 10 segundos e o intervalo entre as séries de 120 segundos, enquanto que nos protocolos usados nos estudos em humanos o esforço dura

aproximadamente 1 minuto e o intervalo tem o mesmo tempo, ou seja, uma razão 1:1 (Simoes *et al.*, 2010).

Além disso, no presente estudo possivelmente o tempo de estímulo (cerca de 10 segundos) não permitiu uma produção excessiva de lactato (Gobatto *et al.*, 2001; Voltarelli, Gobatto & De Mello, 2002). Nesse sentido, os 120 segundos de recuperação foram suficientes para a remoção do lactato através da oxidação no coração e nos músculos esqueléticos. Esse processo é responsável por 70-75% da remoção do lactato, usando o piruvato que é transformado em acetil-CoA. A remoção restante (25-30%) ativa a gliconeogênese (ou seja, o ciclo de Cori) no fígado (Brooks, 2000; Gobatto *et al.*, 2001; Brooks, 2009; Vescovi, Falenchuk & Wells, 2011).

De acordo com Ebal e colaboradores (2007), foi observado no presente estudo um aumento significativo na concentração de corticosterona após o exercício resistido. Rogatto e colaboradores (2004) também reportaram um nível maior na concentração de corticosterona após a realização de exercícios de saltos intermitentes de alta intensidade, realizados de forma aguda. Esses resultados corroboram com o presente estudo, que obteve uma maior concentração plasmática de corticosterona no grupo exercitado em relação ao grupo controle. A secreção de corticosterona é uma resposta fisiológica a um estresse, e pode indicar o estresse produzido pela sessão de treinamento (França *et al.*, 2006; Vale *et al.*, 2009).

Outro fator interessante no presente estudo é que o exercício em escada, realizado de forma aguda, parece produzir menores níveis de estresse, visto que exercícios realizados em esteira e a natação promovem grandes liberações de corticosterona, como mostrado no estudo de Contarteze e colaboradores (2008). Essa diferença pode ser devido à insegurança dos animais em se exercitar na água, enquanto eles devem lutar pelas suas vidas (Contarteze *et al.*, 2008). Entretanto, programas de exercícios resistidos podem promover aumento nos níveis de ansiedade, tanto em homens quanto em mulheres (Bartholomew & Linder, 1998). Além disso, estudos com exercícios voluntários também exibem uma elevação na concentração de corticosterona (Droste *et al.*, 2006; Hajisoltani *et al.*, 2011). O mecanismo de ativação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal durante a realização de exercícios ainda não é claro, mas pode ser devido a um aumento na demanda metabólica (Stranahan, Lee & Mattson, 2008).

Uma das razões para esse aumento pode ser pelo fato de os glicocorticoides possuírem um importante papel metabólico, influenciando o metabolismo da glicose, dos lipídeos e das proteínas. Ele promove uma elevação na glicemia e aumenta a mobilização das reservas de triacilglicerol, liberando ácidos graxos na circulação, para uso dos tecidos hepático e músculos ativos (Andersen *et al.*, 2004; França *et al.*, 2006; Contarteze *et al.*, 2008). Além disso, sabe-se que a corticosterona participa da manutenção dos níveis glicêmicos, que é importante para o funcionamento do cérebro (Hajisoltani *et al.*, 2011).

Os animais do presente estudo apresentaram glicemia maior após o exercício quando comparada ao grupo controle, estando de acordo com dados de estudos anteriores (França *et al.*, 2006; Contarteze *et al.*, 2008)

A análise do conteúdo de glicogênio hepático no presente estudo revelou que o conteúdo deste foi menor nos animais do grupo exercitado, quando comparado com o grupo controle, o que corrobora com os resultados de glicemia e corticosterona dos animais do presente estudo, provavelmente como uma resposta ao estresse do exercício, que pode promover um aumento na glicogenólise hepática, liberando glicose na corrente sanguínea (Mostl & Palme, 2002; Afonso *et al.*, 2003; Rogatto *et al.*, 2004; Cambri *et al.*, 2011).

Com relação ao conteúdo de glicogênio nos músculos, o conteúdo no sóleo foi menor quando comparado ao grupo controle, ao contrário do gastrocnêmio e do bíceps. Os resultados encontrados nos músculos sóleo e gastrocnêmio eram esperados, pois um estudo prévio demonstrou que o músculo sóleo é mais recrutado durante o movimento de escalada quando comparado ao músculo gastrocnêmio (Hornberger & Farrar, 2004). Os menores níveis de conteúdo de glicogênio estão associados com a glicogenólise que ocorre através da ativação do sistema nervoso simpático e dos glicocorticoides, como a corticosterona, em resposta ao exercício (Ramel, Wagner & Elmadfa, 2004; Rogatto *et al.*, 2004; Koh *et al.*, 2007; Cambri *et al.*, 2011; Ghezzi *et al.*, 2011). Nos músculos ativos, os hormônios liberados em situação de estresse, como o exercício, promovem a quebra do glicogênio ocorre através da fosforilase do glicogênio (Lehninger, Nelson & Cox, 2006).

Por fim, os valores de ácidos graxos livres nos tecidos gastrocnêmio, no fígado e no plasma não exibiram diferenças significativas entre os grupos ER e C, apesar do aumento na taxa de corticosterona. Houve uma tendência do AGL apresentar maiores valores no grupo ER, no entanto a diferença não foi

significativamente diferente. Esses resultados sugerem um elevado uso dos estoques de glicogênio e menor utilização dos lipídeos, corroborando com a ideia de que a intensidade do exercício foi alta, promovendo depleção dos estoques de glicogênio (Cambri *et al.*, 2011).

Com relação aos marcadores de microlesão, foi observado no presente estudo um aumento nos níveis séricos de LDH e CK dos ratos exercitados, quando comparados com os ratos do grupo controle. Esses achados estão de acordo com estudos anteriores que também mostraram um significativo aumento nos níveis sanguíneos de LDH e CK após uma única sessão de exercício resistido, tanto em modelos animais (Tamaki *et al.*, 2000; Tamaki *et al.*, 2001; Malaguti *et al.*, 2009) como em humanos (Cooke *et al.*, 2009; Cooke *et al.*, 2010; Machado & Willardson, 2010; Evangelista *et al.*, 2011; Machado, Koch, *et al.*, 2011; Machado, Zini, *et al.*, 2011).

Além de marcador de dano muscular, os níveis séricos de CK podem auxiliar na monitoração da adaptação e do nível de exercício no sistema muscular em exercícios com muitas séries (Mougios, 2007). Além disso, essa enzima pode ser considerada uma ferramenta importante na predição de overtraining e/ou lesão muscular (Machado, Zini, *et al.*, 2011). Exercícios de alta intensidade induzem a valores significativos de LDH na corrente sanguínea (Mena, Maynar & Campillo, 1996). Além disso, o grau de aumento está diretamente relacionado com a duração e intensidade do esforço (Munjaj *et al.*, 1983)

A LDH é uma enzima que interconverte o piruvato e o lactato, com a interconversão concomitante de NADH e NAD, e a CK atua catalisando as ligações entre fosfocreatina e ADP (França *et al.*, 2006; Brancaccio, Lippi & Maffulli, 2010). O aumento das concentrações plasmáticas dessas enzimas está ligado à necrose celular e lesão tecidual após uma única sessão de exercícios, e podem ser causados tanto por estímulos mecânicos quanto metabólicos. Isso pode acontecer devido a degeneração mecânica e rompimento dos sarcômeros através da fragmentação da linha Z, ou devido a um aumento nos íons cálcio livres que podem promover a ativação dos canais de potássio, levando a um aumento na permeabilidade da membrana (Brancaccio, Maffulli & Limongelli, 2007; Mougios, 2007; Brancaccio, Lippi & Maffulli, 2010; Machado, Zini, *et al.*, 2011).

Uma possível limitação do presente estudo é que as análises de LDH e CK foram realizadas somente após o exercício, visto que estudos têm mostrado o

aumento desses marcadores mesmo após horas do final do exercício (Lee *et al.*, 2010).

## 7. CONCLUSÕES

Juntos, estes resultados sugerem que a escalada com cargas incrementais é um exercício de alta intensidade. No entanto, devido aos baixos valores de lactato, possivelmente o metabolismo aeróbio tenha um papel fundamental nesse protocolo de exercício, visto a tendência de aumento nos níveis de AGL, contribuindo de forma importante durante os intervalos entre as séries de escalada.

Contudo, mais pesquisas são necessárias para determinar outras variáveis como realizar a cinética de marcadores de microlesão para avaliar a extensão da mesma, realizar um experimento com animais treinados para averiguar se há uma adaptação e alteração dos marcadores, e ainda se a utilização de diferentes intervalos entre as séries pode afetar significativamente as respostas metabólicas, principalmente em relação ao lactato.

## 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AAGAARD, P.; ANDERSEN, J. L. Effects of strength training on endurance capacity in top-level endurance athletes. **Scand J Med Sci Sports**, v. 20 Suppl 2, p. 39-47, Oct 2010.

AFONSO, M.; SOUZA, C. N.; ZAGATTO, A. M.; LUCIANO, E. Metabolic response to acute physical exercise in wistar rats. **Motriz**, v. 9, p. 83-88, 2003.

AGUIAR, A. F.; AGATI, L. B.; MÜLLER, S. S.; PEREIRA, O. C.; DAL-PAI-SILVA, M. Efeitos do treinamento físico sobre a resistência mecânica do terço proximal do fêmur de ratos. **Acta Ortopédica Brasileira**, v. 18, p. 245-249, 2010.

ANDERSEN, M. L.; BIGNOTTO, M.; MACHADO, R. B.; TUFIK, S. Different stress modalities result in distinct steroid hormone responses by male rats. **Braz J Med Biol Res**, v. 37, n. 6, p. 791-7, Jun 2004.

BARTHOLOMEW, J. B.; LINDER, D. E. State anxiety following resistance exercise: the role of gender and exercise intensity. **J Behav Med**, v. 21, n. 2, p. 205-19, Apr 1998.

BIDINOTTO, P. M.; SOUZA, R. H. S.; MORAES, G. Hepatic glycogen in eight tropical freshwater teleost fish: Procedure for field determinations of microsamples. **Boletim Técnico do CEPTA-Pirassununga**, v. 10, p. 56-60, 1997.

BIJSTERBOSCH, M. K.; DUURSMA, A. M.; SMIT, M. J.; BOS, O. J.; BOUMA, J. M.; GRUBER, M. Several dehydrogenases and kinases compete for endocytosis from plasma by rat tissues. **Biochem J**, v. 229, n. 2, p. 409-17, Jul 15 1985.

BOGDANIS, G. C.; PAPASPYROU, A.; SOUGLIS, A. G.; THEOS, A.; SOTIROPOULOS, A.; MARIDAKI, M. Effects of Two Different Half-Squat Training Programs on Fatigue During Repeated Cycling Sprints in Soccer Players. **J Strength Cond Res**, May 12 2011.

BRANCACCIO, P.; LIPPI, G.; MAFFULLI, N. Biochemical markers of muscular damage. **Clin Chem Lab Med**, v. 48, n. 6, p. 757-67, Jun 2010.

BRANCACCIO, P.; MAFFULLI, N.; LIMONGELLI, F. M. Creatine kinase monitoring in sport medicine. **Br Med Bull**, v. 81-82, p. 209-30, 2007.

BRENTANO, M. A.; MARTINS KRUEL, L. F. A review on strength exercise-induced muscle damage: applications, adaptation mechanisms and limitations. **J Sports Med Phys Fitness**, v. 51, n. 1, p. 1-10, Mar 2011.

BROOKS, G. A. Intra- and extra-cellular lactate shuttles. **Med Sci Sports Exerc**, v. 32, n. 4, p. 790-9, Apr 2000.

BROOKS, G. A. Cell-cell and intracellular lactate shuttles. **J Physiol**, v. 587, n. Pt 23, p. 5591-600, Dec 1 2009.

CAMBRI, L. T.; DE ARAUJO, G. G.; GHEZZI, A. C.; BOTEZELLI, J. D.; MELLO, M. A. Metabolic responses to acute physical exercise in young rats recovered from fetal protein malnutrition with a fructose-rich diet. **Lipids Health Dis**, v. 10, p. 164, 2011.

CHURCH, T. Exercise in obesity, metabolic syndrome, and diabetes. **Prog Cardiovasc Dis**, v. 53, n. 6, p. 412-8, May-Jun 2011.

CONTARTEZE, R. V.; MANCHADO FDE, B.; GOBATTO, C. A.; DE MELLO, M. A. Stress biomarkers in rats submitted to swimming and treadmill running exercises. **Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol**, v. 151, n. 3, p. 415-22, Nov 2008.

COOKE, M. B.; RYBALKA, E.; STATHIS, C. G.; CRIBB, P. J.; HAYES, A. Whey protein isolate attenuates strength decline after eccentrically-induced muscle damage in healthy individuals. **J Int Soc Sports Nutr**, v. 7, p. 30, 2010.

COOKE, M. B.; RYBALKA, E.; WILLIAMS, A. D.; CRIBB, P. J.; HAYES, A. Creatine supplementation enhances muscle force recovery after eccentrically-induced muscle damage in healthy individuals. **J Int Soc Sports Nutr**, v. 6, p. 13, 2009.

DE SOUSA, N. M.; MAGOSSO, R. F.; PEREIRA, G. B.; LEITE, R. D.; ARAKELIAN, V. M.; MONTAGNOLLI, A. N.; PEREZ, S. A.; BALDISSERA, V. The measurement of lactate threshold in resistance exercise: a comparison of methods. **Clin Physiol Funct Imaging**, v. 31, n. 5, p. 376-81, Sep 2011.

DIPLA, K.; NASSIS, G. P.; VRABAS, I. S. Blood Pressure Control at Rest and during Exercise in Obese Children and Adults. **J Obes**, v. 2012, p. 147385, 2012.

DROSTE, S. K.; COLLINS, A.; LIGHTMAN, S. L.; LINTHORST, A. C.; REUL, J. M. Distinct, time-dependent effects of voluntary exercise on circadian and ultradian rhythms and stress responses of free corticosterone in the rat hippocampus. **Endocrinology**, v. 150, n. 9, p. 4170-9, Sep 2009.

DROSTE, S. K.; SCHWEIZER, M. C.; ULBRICHT, S.; REUL, J. M. Long-term voluntary exercise and the mouse hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis: impact of concurrent treatment with the antidepressant drug tianeptine. **J Neuroendocrinol**, v. 18, n. 12, p. 915-25, Dec 2006.

EBAL, E.; CAVALIE, H.; MICHAUX, O.; LAC, G. Effect of a moderate exercise on the regulatory hormones of food intake in rats. **Appetite**, v. 49, n. 2, p. 521-4, Sep 2007.

EVANGELISTA, R.; PEREIRA, R.; HACKNEY, A. C.; MACHADO, M. Rest interval between resistance exercise sets: length affects volume but not creatine kinase activity or muscle soreness. **Int J Sports Physiol Perform**, v. 6, n. 1, p. 118-27, Mar 2011.

FAIGENBAUM, A. D.; KRAEMER, W. J.; BLIMKIE, C. J.; JEFFREYS, I.; MICHELI, L. J.; NITKA, M.; ROWLAND, T. W. Youth resistance training: updated position

statement paper from the national strength and conditioning association. **J Strength Cond Res**, v. 23, n. 5 Suppl, p. S60-79, Aug 2009.

FAUDE, O.; KINDERMANN, W.; MEYER, T. Lactate threshold concepts: how valid are they? **Sports Med**, v. 39, n. 6, p. 469-90, 2009.

FELBER, J. P.; GOLAY, A. Regulation of nutrient metabolism and energy expenditure. **Metabolism**, v. 44, n. 2 Suppl 2, p. 4-9, Feb 1995.

FRANÇA, S. C.; BARROS NETO, T. L.; AGRESTA, M. C.; LOTUFO, R. F.; KATER, C. E. [Divergent responses of serum testosterone and cortisol in athlete men after a marathon race]. **Arq Bras Endocrinol Metabol**, v. 50, n. 6, p. 1082-7, Dec 2006.

GARCIA-PALLARES, J.; SANCHEZ-MEDINA, L.; CARRASCO, L.; DIAZ, A.; IZQUIERDO, M. Endurance and neuromuscular changes in world-class level kayakers during a periodized training cycle. **Eur J Appl Physiol**, v. 106, n. 4, p. 629-38, Jul 2009.

GHEZZI, A. C.; CAMBRI, L. T.; RIBEIRO, C.; BOTEZELLI, J. D.; MELLO, M. A. Impact of early fructose intake on metabolic profile and aerobic capacity of rats. **Lipids Health Dis**, v. 10, p. 3, 2011.

GLOVER, E. I.; PHILLIPS, S. M. Resistance exercise and appropriate nutrition to counteract muscle wasting and promote muscle hypertrophy. **Curr Opin Clin Nutr Metab Care**, v. 13, n. 6, p. 630-4, Nov 2010.

GOBATTO, C. A.; DE MELLO, M. A.; SIBUYA, C. Y.; DE AZEVEDO, J. R.; DOS SANTOS, L. A.; KOKUBUN, E. Maximal lactate steady state in rats submitted to swimming exercise. **Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol**, v. 130, n. 1, p. 21-7, Aug 2001.

GOROSTIAGA, E. M.; NAVARRO-AMEZQUETA, I.; CUSSO, R.; HELLSTEN, Y.; CALBET, J. A.; GUERRERO, M. *et al.* Anaerobic energy expenditure and mechanical efficiency during exhaustive leg press exercise. **PLoS One**, v. 5, n. 10, p. e13486, 2010.

HAJISOLTANI, R.; RASHIDY-POUR, A.; VAFAEI, A. A.; GHADERDOOST, B.; BANDEGI, A. R.; MOTAMEDI, F. The glucocorticoid system is required for the voluntary exercise-induced enhancement of learning and memory in rats. **Behav Brain Res**, v. 219, n. 1, p. 75-81, May 16 2011.

HARRIS, M. B.; SLACK, K. N.; PRESTOSA, D. T.; HRYVNIAC, D. J. Resistance training improves femoral artery endothelial dysfunction in aged rats. **Eur J Appl Physiol**, v. 108, n. 3, p. 533-40, Feb 2010.

HAYES, L. D.; BICKERSTAFF, G. F.; BAKER, J. S. Interactions of cortisol, testosterone, and resistance training: influence of circadian rhythms. **Chronobiol Int**, v. 27, n. 4, p. 675-705, Jun 2010.

HORNBERGER, T. A., JR.; FARRAR, R. P. Physiological hypertrophy of the FHL muscle following 8 weeks of progressive resistance exercise in the rat. **Can J Appl Physiol**, v. 29, n. 1, p. 16-31, Feb 2004.

JAMURTAS, A. Z.; THEOCHARIS, V.; TOFAS, T.; TSIOKANOS, A.; YFANTI, C.; PASCHALIS, V.; KOUTEDAKIS, Y.; NOSAKA, K. Comparison between leg and arm eccentric exercises of the same relative intensity on indices of muscle damage. **Eur J Appl Physiol**, v. 95, n. 2-3, p. 179-85, Oct 2005.

KARATZAFERI, C.; DE HAAN, A.; FERGUSON, R. A.; VAN MECHELEN, W.; SARGEANT, A. J. Phosphocreatine and ATP content in human single muscle fibres before and after maximum dynamic exercise. **Pflugers Arch**, v. 442, n. 3, p. 467-74, Jun 2001.

KE, Z.; YIP, S. P.; LI, L.; ZHENG, X. X.; TONG, K. Y. The effects of voluntary, involuntary, and forced exercises on brain-derived neurotrophic factor and motor function recovery: a rat brain ischemia model. **PLoS One**, v. 6, n. 2, p. e16643, 2011.

KOH, H. J.; HIRSHMAN, M. F.; HE, H.; LI, Y.; MANABE, Y.; BALSCHI, J. A.; GOODYEAR, L. J. Adrenaline is a critical mediator of acute exercise-induced AMP-activated protein kinase activation in adipocytes. **Biochem J**, v. 403, n. 3, p. 473-81, May 1 2007.

KORZENIEWSKI, C.; CALLEWAERT, D. M. An enzyme-release assay for natural cytotoxicity. **J Immunol Methods**, v. 64, n. 3, p. 313-20, Nov 25 1983.

LEE, C. J.; PENG, T. C.; HSU, B. G.; HARN, H. J.; CHAO, Y. F.; LEE, R. P. Lack of exercise decreases survival and increases organ damage after hemorrhagic shock in rats. **Biol Res Nurs**, v. 12, n. 2, p. 198-205, Oct 2010.

LEE, S.; BARTON, E. R.; SWEENEY, H. L.; FARRAR, R. P. Viral expression of insulin-like growth factor-I enhances muscle hypertrophy in resistance-trained rats. **J Appl Physiol**, v. 96, n. 3, p. 1097-104, Mar 2004.

LEE, S.; FARRAR, R. P. Resistance Training Induces Muscle-Specific Changes In Muscle Mass And Function In Rat. **Journal of Exercise Physiology online**, v. 6, n. 2, p. 8, 2003.

LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de Bioquímica**. 4. 2006. 1202

LEITE, R. D.; PRESTES, J.; BERNARDES, C. F.; SHIGUEMOTO, G. E.; PEREIRA, G. B.; DUARTE, J. O. *et al.* Effects of ovariectomy and resistance training on lipid content in skeletal muscle, liver, and heart; fat depots; and lipid profile. **Appl Physiol Nutr Metab**, v. 34, n. 6, p. 1079-86, Dec 2009.

LINCOLN, A. K.; SHEPHERD, A.; JOHNSON, P. L.; CASTANEDA-SCEPPA, C. The Impact of Resistance Exercise Training on the Mental Health of Older Puerto Rican Adults With Type 2 Diabetes. **J Gerontol B Psychol Sci Soc Sci**, May 12 2011.

LOVELL, D. I.; CUNEO, R.; GASS, G. C. Strength training improves submaximum cardiovascular performance in older men. **J Geriatr Phys Ther**, v. 32, n. 3, p. 117-24, 2009.

MACHADO, M.; KOCH, A. J.; WILLARDSON, J. M.; PEREIRA, L. S.; CARDOSO, M. I.; MOTTA, M. K.; PEREIRA, R.; MONTEIRO, A. N. Effect of varying rest intervals between sets of assistance exercises on creatine kinase and lactate dehydrogenase responses. **J Strength Cond Res**, v. 25, n. 5, p. 1339-45, May 2011.

MACHADO, M.; WILLARDSON, J. M. Short recovery augments magnitude of muscle damage in high responders. **Med Sci Sports Exerc**, v. 42, n. 7, p. 1370-4, Jul 2010.

MACHADO, M.; ZINI, E. N.; VALADAO, S. D.; AMORIM, M. Z.; BARROSO, T. Z.; DE OLIVEIRA, W. Relationship of glomerular filtration rate and serum CK activity after resistance exercise in women. **Int Urol Nephrol**, Apr 20 2011.

MALAGUTI, M.; ANGELONI, C.; GARATACHEA, N.; BALDINI, M.; LEONCINI, E.; COLLADO, P. S. *et al.* Sulforaphane treatment protects skeletal muscle against damage induced by exhaustive exercise in rats. **J Appl Physiol**, v. 107, n. 4, p. 1028-36, Oct 2009.

MARQUETI, R. C.; PRESTES, J.; STOTZER, U. S.; PASCHOAL, M.; LEITE, R. D.; PEREZ, S. E.; SELISTRE DE ARAUJO, H. S. MMP-2, jumping exercise and nandrolone in skeletal muscle. **Int J Sports Med**, v. 29, n. 7, p. 559-63, Jul 2008.

MELO, S. F. S.; AMADEU, M. A.; MAGALHÃES, F. D. C.; FERNANDES, T.; CARMO, E. C. D.; BARRETTI, D. L. M.; BRUM, P. C.; OLIVEIRA, E. M. D. Exercício de força ativa a via AKT/mTor pelo receptor de angiotensina II tipo I no músculo cardíaco de ratos. **Revista Brasileira de Educação Física e Esporte**, v. 25, p. 377-385, 2011.

MENA, P.; MAYNAR, M.; CAMPILLO, J. E. Changes in plasma enzyme activities in professional racing cyclists. **Br J Sports Med**, v. 30, n. 2, p. 122-4, Jun 1996.

MESSONNIER, L.; FREUND, H.; DENIS, C.; DORMOIS, D.; DUFOUR, A. B.; LACOUR, J. R. Time to exhaustion at VO<sub>2</sub>max is related to the lactate exchange and removal abilities. **Int J Sports Med**, v. 23, n. 6, p. 433-8, Aug 2002.

MEYER, T.; LUCIA, A.; EARNEST, C. P.; KINDERMANN, W. A conceptual framework for performance diagnosis and training prescription from submaximal gas exchange parameters--theory and application. **Int J Sports Med**, v. 26 Suppl 1, p. S38-48, Feb 2005.

MILES, J. L.; HUBER, K.; THOMPSON, N. M.; DAVISON, M.; BREIER, B. H. Moderate daily exercise activates metabolic flexibility to prevent prenatally induced obesity. **Endocrinology**, v. 150, n. 1, p. 179-86, Jan 2009.

MOSTL, E.; PALME, R. Hormones as indicators of stress. **Domest Anim Endocrinol**, v. 23, n. 1-2, p. 67-74, Jul 2002.

MOUGIOS, V. Reference intervals for serum creatine kinase in athletes. **Br J Sports Med**, v. 41, n. 10, p. 674-8, Oct 2007.

MUNJAL, D. D.; MCFADDEN, J. A.; MATIX, P. A.; COFFMAN, K. D.; CATTANEO, S. M. Changes in serum myoglobin, total creatine kinase, lactate dehydrogenase and creatine kinase MB levels in runners. **Clin Biochem**, v. 16, n. 3, p. 195-9, Jun 1983.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL (US) BOARD ON BIOLOGY, Ed. **Privacy Issues in Biomedical and Clinical Research**. National Academies Press (US). Washington (DC), National Academies Press (US), 2010/09/17 ed. 1998.

NODA, L.; NIHEI, T.; MORALES, M. F. The enzymatic activity and inhibition of adenosine 5'-triphosphate-creatine transphosphorylase. **J Biol Chem**, v. 235, p. 2830-4, Oct 1960.

NOVÁK, M. Colorimetric ultramicro method for the determination of free fatty acids. **Journal of Lipid Research**, v. 6, n. 3, p. 431-433, July 1, 1965 1965.

PASCHALIS, V.; KOUTEDAKIS, Y.; BALTZOPOULOS, V.; MOUGIOS, V.; JAMURTAS, A. Z.; GIAKAS, G. Short vs. long length of rectus femoris during eccentric exercise in relation to muscle damage in healthy males. **Clin Biomech (Bristol, Avon)**, v. 20, n. 6, p. 617-22, Jul 2005.

PEREIRA, G. B.; PRESTES, J.; LEITE, R. D.; MAGOSSO, R. F.; PEIXOTO, F. S.; MARQUETI RDE, C. *et al.* Effects of ovariectomy and resistance training on MMP-2 activity in rat calcaneal tendon. **Connect Tissue Res**, v. 51, n. 6, p. 459-66, Dec 2010.

PRESTES, J.; DE CASSIA MARQUETI, R.; SHIGUEMOTO, G. E.; LEITE, R. D.; PEREIRA, G. B.; SELISTRE-DE-ARAUJO, H. S.; BALDISSERA, V.; DE ANDRADE PEREZ, S. E. Effects of ovariectomy and resistance training on MMP-2 activity in skeletal muscle. **Appl Physiol Nutr Metab**, v. 34, n. 4, p. 700-6, Aug 2009.

PROSKE, U.; MORGAN, D. L. Muscle damage from eccentric exercise: mechanism, mechanical signs, adaptation and clinical applications. **J Physiol**, v. 537, n. Pt 2, p. 333-45, Dec 1 2001.

RAMEL, A.; WAGNER, K. H.; ELMADFA, I. Correlations between plasma noradrenaline concentrations, antioxidants, and neutrophil counts after submaximal resistance exercise in men. **Br J Sports Med**, v. 38, n. 5, p. E22, Oct 2004.

RATAMESS, N. A.; ALVAR, B. A.; EVETOCH, T. K.; HOUSH, T. J.; KIBLER, W. B.; KRAEMER, W. J.; TRIPLETT, N. T. American College of Sports Medicine position stand. Progression models in resistance training for healthy adults. **Med Sci Sports Exerc**, v. 41, n. 3, p. 687-708, Mar 2009.

RENNO, A. C. M.; FAGANELLO, F. R.; MOURA, F. M. D.; SANTOS, N. S. A. D.; TIRICO, R. P.; BOSSINI, P. S. *et al.* Os efeitos de um programa de atividade física

de carga progressiva nas propriedades físicas e na força óssea de ratas osteopênicas. **Acta Ortopédica Brasileira**, v. 15, p. 276-279, 2007.

ROGATTO, G. P.; OLIVEIRA, C. A.; FARIA, M. C.; LUCIANO, E. Acute metabolic responses of Wistar rats to intermittent jump exercise. **Motriz**, v. 10, p. 61-66, 2004.

RYNDERS, C. A.; ANGADI, S. S.; WELTMAN, N. Y.; GAESSER, G. A.; WELTMAN, A. Oxygen uptake and ratings of perceived exertion at the lactate threshold and maximal fat oxidation rate in untrained adults. **Eur J Appl Physiol**, v. 111, n. 9, p. 2063-8, Sep 2011.

SHIGUEMOTO, G.; PRESTES, J.; LEITE, R.; PEREIRA, G.; PONTES, C.; D'ÁVILA, F. *et al.* Effects of resistance training on matrix metalloproteinase-2 activity and biomechanical and physical properties of bone in ovariectomized and intact rats. **Scand J Med Sci Sports.**, 2011.

SIMOES, R. P.; MENDES, R. G.; CASTELLO, V.; MACHADO, H. G.; ALMEIDA, L. B.; BALDISSERA, V. *et al.* Heart-rate variability and blood-lactate threshold interaction during progressive resistance exercise in healthy older men. **J Strength Cond Res**, v. 24, n. 5, p. 1313-20, May 2010.

SOUZA, P. M.; JACOB-FILHO, W.; SANTAREM, J. M.; ZOMIGNAN, A. A.; BURATTINI, M. N. Effect of progressive resistance exercise on strength evolution of elderly patients living with HIV compared to healthy controls. **Clinics (Sao Paulo)**, v. 66, n. 2, p. 261-6, 2011.

SPERETTA, G. F. F. **Natação e Treinamento de Força: Influências sobre a expressão gênica de TNF-alfa e IL-10, área de adipócitos e perfil lipídico em ratos obesos.** 2011. (Mestrado). Departamento de Ciências Fisiológicas, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos.

STONE, M.; PLISK, S.; COLLINS, D. Training principles: evaluation of modes and methods of resistance training--a coaching perspective. **Sports Biomech**, v. 1, n. 1, p. 79-103, Jan 2002.

STRANAHAN, A. M.; LEE, K.; MATTSON, M. P. Central mechanisms of HPA axis regulation by voluntary exercise. **Neuromolecular Med**, v. 10, n. 2, p. 118-27, 2008.

TAMAKI, T.; UCHIYAMA, S.; UCHIYAMA, Y.; AKATSUKA, A.; ROY, R. R.; EDGERTON, V. R. Anabolic steroids increase exercise tolerance. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, v. 280, n. 6, p. E973-81, Jun 2001.

TAMAKI, T.; UCHIYAMA, S.; UCHIYAMA, Y.; AKATSUKA, A.; YOSHIMURA, S.; ROY, R. R.; EDGERTON, V. R. Limited myogenic response to a single bout of weight-lifting exercise in old rats. **Am J Physiol Cell Physiol**, v. 278, n. 6, p. C1143-52, Jun 2000.

VALE, R. G. D. S.; DE OLIVEIRA, R. D.; PERNAMBUCO, C. S.; DE MENESES, Y. P. D. S. F.; NOVAES, J. D. S.; DE ANDRADE, A. D. F. D. Effects of muscle strength

and aerobic training on basal serum levels of IGF-1 and cortisol in elderly women. **Archives of Gerontology and Geriatrics**, v. 49, n. 3, p. 343-347, 2009.

VESCOVI, J. D.; FALENCHUK, O.; WELLS, G. D. Blood lactate concentration and clearance in elite swimmers during competition. **Int J Sports Physiol Perform**, v. 6, n. 1, p. 106-117, Mar 2011.

VINCENT, K. R.; VINCENT, H. K. Resistance training for individuals with cardiovascular disease. **J Cardiopulm Rehabil**, v. 26, n. 4, p. 207-16; quiz 217-8, Jul-Aug 2006.

VOLTARELLI, F. A.; GOBATTO, C. A.; DE MELLO, M. A. Determination of anaerobic threshold in rats using the lactate minimum test. **Braz J Med Biol Res**, v. 35, n. 11, p. 1389-94, Nov 2002.

WELLS, G. D.; SELVADURAI, H.; TEIN, I. Bioenergetic provision of energy for muscular activity. **Paediatr Respir Rev**, v. 10, n. 3, p. 83-90, Sep 2009.

WILMORE, J. H.; COSTILL, D. L.; KENNEY, W. L. **Fisiologia do esporte e do exercício**. 4. Barueri, SP: 2010. 594