



**‘UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE CIÊNCIAS APLICADAS**

André Victor Cordeiro

**EFEITOS DO EXERCÍCIO AGUDO ISOCARGA, COM DIFERENTES
MANIPULAÇÕES DE “VOLUME E INTENSIDADE”, SOBRE PARÂMETROS
FISIOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS DE RATOS NADADORES**

Limeira
2016



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE CIÊNCIAS APLICADAS**

André Victor Cordeiro

**EFEITOS DO EXERCÍCIO AGUDO ISOCARGA, COM DIFERENTES
MANIPULAÇÕES DE “VOLUME E INTENSIDADE”, SOBRE PARÂMETROS
FISIOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS DE RATOS NADADORES**

Trabalho de Conclusão de Curso,
apresentado como requisito parcial para
obtenção do título de Bacharel em Ciências
do Esporte, à Faculdade de Ciências
Aplicadas, da Universidade Estadual de
Campinas.

Orientadora: Profa. Dra. Fúlvia de Barros Manchado-Gobatto

Co-orientador: Me. Lucas Dantas Maia Forte

Limeira

2016

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca da Faculdade de Ciências Aplicadas
Renata Eleuterio da Silva - CRB 8/9281

C811e Cordeiro, André Victor, 1994-
Efeitos do exercício agudo isocarga, com diferentes manipulações de "volume e intensidade", sobre parâmetros fisiológicos e bioquímicos de ratos nadadores / André Victor Cordeiro. – Limeira, SP : [s.n.], 2016.

Orientador: Fúlvia de Barros Manchado Gobatto.

Coorientador: Lucas Dantas Maia Forte.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Ciências Aplicadas.

1. Exercícios físicos. 2. Músculo esquelético. 3. Fígado. 4. Rato como animal de laboratório. I. Gobatto, Fúlvia de Barros Manchado, 1980-. II. Forte, Lucas Dantas Maia, 1988-. III. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Aplicadas. IV. Título.

Informações adicionais, complementares

Título em outro idioma: Effects of isoload acute exercise with different "volume vs intensity" manipulations, over biochemical and physiological parameters in swimming rats

Palavras-chave em inglês:

Physical exercises

Skeletal muscle

Liver

Rats as laboratory animals

Titulação: Bacharel em Ciências do Esporte

Banca examinadora:

José Rodrigo Pauli

Ivan Gustavo Masselli dos Reis

Fúlvia de Barros Manchado-Gobatto

Data de entrega do trabalho definitivo: 30-11-2016

Autor: André Victor Cordeiro

Título: Efeitos do Exercício Agudo Isocarga, com Diferentes Manipulações de "Volume e Intensidade" Sobre Parâmetros Fisiológicos e Bioquímicos de Ratos Nadadores

Natureza: Trabalho de Conclusão de Curso em [Ciências do Esporte]

Instituição: Faculdade de Ciências Aplicadas, Universidade Estadual de Campinas

Aprovado em: 30/11/2016"

BANCA EXAMINADORA

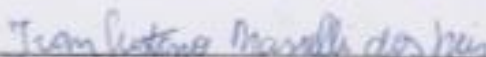


Prof. Dra. Fúlvia de Barros Manchado-Gobatto – Presidente
Faculdade de Ciências Aplicadas (FCA/UNICAMP)



Me. Lucas Dantas Maia Forte – Co-orientador
Faculdade de Ciências Aplicadas (FCA/UNICAMP)

Prof. Dr. José Rodrigo Pauli – Avaliador
Faculdade de Ciências Aplicadas (FCA/UNICAMP)



Prof. Dr. Ivan Gustavo Masselli dos Reis – Avaliador
Faculdade de Ciências Aplicadas (FCA/UNICAMP)

Dedicatória

Ao meu pai, por ter me dado
as condições necessárias para que
eu pudesse escolher o caminho que
me fosse necessário. Por ser um
exemplo de homem, pai e amigo.
Por ser minha inspiração, e por olhar
por mim, de onde quer que esteja.

Eu sempre vou te amar.

Agradecimentos

Sobre vida e Castelos de areia..

Penso que é possível fazer à vida, uma analogia sobre uma criança na praia, à beira do mar, construindo o seu castelo de areia. E através dessa crônica, tentarei expressar a gratidão à todos que me fizeram chegar nesse momento da minha carreira.

Mais importante de tudo, agradecer a Deus. A base e a criação de todo o existente. Palavras de gratidão, não conseguiriam expressar as dádivas que eu recebi em minha vida.

'In memoriam', ao meu pai. O senhor foi o homem que me levou à praia, que me mostrou o seu castelo construído, e que me deu todo o suporte e material necessário, para que eu pudesse ao longo da minha vida, construir o meu próprio castelo. O senhor foi e sempre será a minha maior inspiração, e maior saudade. E não há um dia, que eu olharei pro mar, e não lembrarei de todos os seus ensinamentos. Sei que você está em algum lugar, cuidando para que o meu castelo não desabe, e que cada vez ele fique mais perfeito. Mas o meu maior objetivo, é que ao final da minha vida, esse castelo seja pelo menos metade do que você construiu, e que eu seja ao menos um pouco do homem que você foi. E eu sei que um dia a gente ainda vai se encontrar.

Em segundo lugar, a minha família. Ao meu irmão, meus primos, a minha querida tia e a minha amada prima de 2º grau – vocês são a base, a maior e mais sólida parte de todo o meu castelo. Mas em especial, a minha querida mãe. *Tia Nair*, saiba que você é a responsável por todas as reconstruções que eu fiz em meu castelo durante toda a minha vida, sempre que algo de errado havia acontecido com ele. Que a senhora é responsável pela fortaleza, ou mais, que a senhora é a própria fortaleza, por sua força e sapiência, e por todos os seus ensinamentos. Saiba, que se um dia ele se tornar um império, a torre mais alta e mais bonita será sua. Todo dia que eu chego dessa praia, cansado de construções e reconstruções diárias do meu pequeno castelo de areia, ouvir sua voz por um momento, é algo que já faz o

meu dia valer a pena. As mais bonitas palavras de amor e gratidão, não conseguiriam expressar tudo o que eu gostaria de lhe dizer.

Mas eu não preciso falar, que esse castelo, eu não construí sozinho. Então o meu mais sincero obrigado, aos meus amigos de infância e a ACM, vocês foram os responsáveis pela construção, não só do meu castelo, mas dos meus valores. Sempre me ensinaram, que a educação dentro de casa é importante, mas quem realmente ensina, é a rua. Então, obrigado por estarem sempre lado a lado quando começamos a aprender sobre o que eram os castelos de areia, por tudo o que vivemos, e pelas conversas, que até hoje, são parte especial na minha vida. Da mesma forma que a *Selva de Pedra* é parte essencial da minha vida, a *Cidade do Lanche* não é menos importante. À todos os meus amigos de Bauru, o lugar que eu também chamo de casa, o meu mais sincero obrigado. Vocês foram a minha fortaleza e a minha felicidade, sempre que eu precisei.'

Gabriel Baueb, o grande irmão que Limeira me deu. Foi através da nossa amizade, que percebemos que castelos de areia são construídos em conjunto. E que a caminhada que se faz é mais importante do que o lugar em que se chega. Então obrigado pelas vezes que comemoramos nossas vitórias em batalhas juntos, mas principalmente, obrigado pelas noites em claro construindo o castelo, nos preparando pra batalhas. Obrigado pela força que você me deu, sempre que o castelo precisava de ajuda, e até mesmo quando ele foi desmoronado. Você é o guerreiro lutou do meu lado contra tudo o que foi necessário. E assim continuará sendo. E também não poderia deixar de agradecer ao #2D, a busca pela excelência que nos movia em tudo o que nós fazíamos – Lucas Lordello e Isabela Hauer, que esse legado seja inspiração pro resto das nossas vidas.

Ao meu mestre, e o meu irmão mais velho, Lucas Dantas. Você é o maior responsável por tudo o que eu construí nesses 4 anos. Os seus ensinamentos, a sua paciência por ensinar e aguentar todos os erros que cometi ("*Regra número 1 – NUNCA confie no André*"), os conselhos quando eu precisei, as oportunidades que me concedeu... a minha gratidão é inexpressável por tudo o que você fez pelo meu castelo. E mesmo que seu castelo seja fique num reino muito distante, você sempre terá um lugar no meu, sempre que precisar. Se hoje, meu pequeno castelo serve de inspiração pra alguém, foi porque o seu um dia serviu de inspiração e modelo pra

mim. E da mesma forma, Paulo Daubian, também é o meu irmão mais velho, e mais louco. O meu muito obrigado por todas as nossas conversas, e por todos os momentos que vivemos juntos. O seu lugar no meu castelo, estará sempre reservado, pra quando você precisar.

A República *Lambda Theta*, o lugar que me recebeu e me deu as condições e aprendizados necessários, para entender que a faculdade é um momento único na vida de todo criador de castelos. Marcus Campos, obrigado pelos ensinamentos e conselhos, e por compartilhar um pouco sobre a forma que você enxerga o mar, e arquiteta castelos de uma forma muito diferente. Serginho, Crô e Eli, por aguentarem os trotes juntos, e por ser os primeiros irmãos que essa faculdade me trouxe. Um agradecimento especial também a República *Bongô*, pelos 2 anos e meio de muita história lá vividos, sem deixar de mencionar a gratidão ao Aurélio e ao Yuri, que abriram as portas do Castelo para que eu pudesse ali morar, ao Andrés Sanchez, o homem de maior empatia que eu já conheci em toda a minha vida, e aos meus eternos bixos preferidos Enzo, Medes e Ribery (*ceis são peculiar demais!*). Por último, a República *MeteOuLate*, em especial ao meu irmão Caio Bernardes, por ter me aberto a porta do nosso pequeno castelo.

Em especial, eu não poderia deixar de agradecer ao SAE (Serviço de Apoio Ao Estudante), e a Patrícia e Elaine. Sem vocês, eu não teria terminado nem o primeiro semestre da graduação. E graças a ajuda, hoje o meu castelo é imenso, a minha graduação chega a seu fim, e o meu castelo continuará sendo construído através da pesquisa, área na qual, a bolsa social me abriu as portas e me fez enxergar algo único, que talvez eu não teria oportunidade de conhecer, se fosse de outra forma. Com o maior orgulho do mundo, eu fui bolsista SAE durante toda a minha graduação.

E por falar em pesquisa laboratorial, o meu mais sincero agradecimento à todo o grupo do LFAE, pelos 3 anos que eu passei, construindo e solidificando a base de todo o meu castelo. Em especial a minha eterna orientadora Fulvia Manchado-Gobatto, pois eu nunca me esquecerei o dia em que você confiou em mim para entrar no seu laboratório, e posteriormente fazer parte do seu excelente e seletivo grupo de pesquisa. Um agradecimento também ao Claudio Gobatto, coordenador do laboratório. E um agradecimento especial ao Wladimir Beck, Ivan e

Pedro. O que eu aprendi apenas ouvindo vocês conversando e realizando experimentos, é algo que foi imensurável para a formação do meu castelo.

Mesmo sem querer, tive que sair do LAFAE. Mas, como dizem: “*Deus escreve certo por linhas tortas*”, e continuei a construir meu castelo no Laboratório de Biologia Molecular do Exercício, o melhor que poderia me acontecer. Professor Ropelle, o meu mais sincero agradecimento pela confiança no meu trabalho, e por me ensinar diversas lições, com poucas palavras. Eu ainda tenho muito o que aprender com o senhor, e em troca, fazer o máximo para que o grupo cresça cada vez mais. A minha eterna gratidão a todos os membros do LaBMEx pelos ensinamentos diários, e pela paciência, pelas reuniões científicas, pelo companheirismo e amizade dentro e fora do ambiente de trabalho. E um agradecimento especial, a minha mamãe e co-orientadora Luciene Lenhare, pelos conselhos, e por me ajudar diariamente a construir o meu castelo, assim como aos professores Leandro Moura, Rodrigo Pauli e Dennys Cintra, por toda a confiança e ensinamentos imensuráveis.

E pela confiança em que eu poderia passar à frente um pouquinho do conhecimento que obtive nesse tempo, um agradecimento à todos os professores que me deixaram participar do Programa de Apoio Didático (PAD). A minha eterna gratidão, em especial, ao professor Luciano Mercadante e à professora Maria Claudia Fusaro, que me forneceram a base, o conhecimento, as condições e a confiança para que eu pudesse crescer como pessoa e como profissional.

Por fim, um agradecimento especial aos professores Alcides Scaglia e Taísa Belli, pelos seus castelos e a forma brilhante de disseminá-los aos alunos servir e inspiração a mim e a todos que desejam, um dia, ensinar alguém a construir seu próprio castelo. Vocês são professores no mais puro sentido da palavra.

Por fim, a Universidade Estadual de Campinas, por todo o apoio que tem me dado nos últimos anos, para que eu pudesse crescer como estudante, pesquisador e pessoa.

O meu eterno orgulho de ser UNICAMP.

“Agir, eis a inteligência verdadeira.

Serei o que quiser, mas terei de querer ser aquilo que for.

Pois o êxito está em ter êxito,

e não em ter condições de êxito.

Condições de palácio, têm qualquer terra larga.

Mas onde estará o palácio, se ali não o fizerem?”

- Fernando Pessoa.

Cordeiro, André Victor. Efeitos agudos do Exercício em Isocarga de Esforço, com diferentes manipulações de “Volume e Intensidade” sobre parâmetros fisiológicos e bioquímicos em natação para modelo animal. 2016. nº 62f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências do Esporte) – Faculdade de Ciências Aplicadas. Universidade Estadual de Campinas. Limeira, 2016.

RESUMO

Apesar da relação entre o exercício físico e diversos parâmetros fisiológicos estar bem elucidada na literatura, ainda há grandes lacunas quanto à realização do exercício em intensidades controladas, sobre importantes respostas fisiológicas. Posto isso, o presente estudo investigou os efeitos do exercício agudo isocarga, com diferentes manipulações de volume e intensidade, sobre parâmetros fisiológicos de ratos nadadores. Amostras séricas e de tecidos musculares (gastrocnêmio e glúteo) e hepático foram extraídas para a determinação dos níveis séricos do perfil lipídico, glicose, proteínas totais, albumina, creatina quinase (CK), lactato desidrogenase (LDH) e dos conteúdos teciduais de estoques de glicogênio. Os níveis séricos de concentração de lactato e os valores da intensidade no limiar anaeróbio, foram semelhantes aos encontrados em outros estudos. Os níveis séricos de CK foram significativamente inferiores nos grupos supra limiar (G110 e G120), tanto em sua isoforma muscular quanto hepática. Da mesma forma, os valores séricos de LDH foram inferiores nos mesmos grupos. As concentrações de ácido úrico foram maiores no grupo G120 em relação aos outros grupos, e o conteúdo dos estoques de glicogênio hepático foram significativamente menores nos grupos supra limiar (G110 e G120) em relação ao controle (GC). Assim, demonstramos que a realização de uma única sessão de exercício, foi capaz de promover alterações metabólicas per se, especialmente nos níveis lactacidêmicos, de dano muscular e nos estoques de glicogênio hepático, principalmente nos grupos exercitados de forma supra limiar (G110 e G120). Tais resultados nos permite aventar à hipótese de que a sucessiva aplicação dessas cargas, cronicamente, pode alterar o comportamento dessas e de outras variáveis metabólicas que se demonstraram inalteradas na presente pesquisa.

Palavras Chave: exercício físico, isocarga, músculo esquelético, fígado, ratos nadadores.

Cordeiro, André Victor Cordeiro. Isoload Effort Acute Effects, with different “Volume and Intensity” manipulations over physiological parameters in swimming for animal model. 2016. nº 62f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências do Esporte) – Faculdade de Ciências Aplicadas. Universidade Estadual de Campinas. Limeira, 2016.

ABSTRACT

Despite the relationship between physical exercise and several physiological parameters being very well elucidated in the literature, there still are large gaps regarding the realization of isoload efforts with different volume and intensity manipulations over physiological responses. Thereby, this study researched the acute exercise effects, with different manipulations of volume vs intensity, with the same load efforts, linking this to several physiological parameters of swimming rats. Samples of blood and muscular tissues (gastrocnemius, soleus and gluteal) and hepatic were extracted to the determination of serum levels of lipid profile (triglycerides, free fatty acids, HDL and LDL), glucose, total proteins, albumin, creatine kinase, lactate dehydrogenase and glycogen tissue contents. Serum levels of lactate concentration and the values of anaerobic threshold intensity was similar to found in other studies. The serum levels of CK was significantly lower in the above threshold groups (G110 and G120), both in muscle and hepatic isoform. Similarly, the blood values of LDH was lower in the same groups, In addition, uric acid concentrations was higher in the G120 group in relation with all others groups, and the hepatic content of glycogen stores was significantly lower in the above threshold groups in relations to control. Thus, we showed that perform one acute session of exercise could promote metabolic alterations *per se*, especially in lactate levels, muscle damage and hepatic glycogen stores, primordially in the G110 and G120. These results allow us to hypothesize that the chronic application of these loads, could modify the behaviour of this and others metabolic variables, including those that have been shown unchanged in the present study.

Keywords: physical exercise, isoload efforts, skeletal muscles, liver, swimming rats.

TABELAS

Tabela 1. 35

Organização do período de adaptação durante o experimento

Tabela 2. 37

Variação dos valores de volume em minutos e segundos, de acordo com a intensidade de cada grupo, para alcançar a isocarga de esforço (TRIMP).

Tabela 3. 39

Média + desvio padrão dos valores da massa corporal dos animais, intensidade do LAn (%MC), lactacidemia do LAn (mMol/L), tempo limite com a carga de 13% do peso corporal (s). Resultados expressos como média + desvio padrão.

Tabela 4. 40

Resultados das amostras de lactato sanguíneo pré e pós o exercício agudo realizado.

Tabela 5. 41

Resultados dos parâmetros séricos imediatamente após a realização do exercício agudo dos grupos experimentais.

Tabela 6. 42

Resultados de glicogênio muscular e hepático extraídos imediatamente após a realização do exercício.

FIGURAS

Figura 1.	34
-----------------------	-----------

Sequência cronológica do experimento

Figura 2.	36
-----------------------	-----------

Representação gráfica do Teste de Lactato Mínimo

Figura 3.	40
-----------------------	-----------

Resultados de lactacidemia apresentado graficamente, dos grupos exercitados durante a sessão aguda de esforço.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AG	Ácidos Graxos
AGL	Ácidos graxos livres
AMPK	Proteína Quinase ativada por AMP
CAMK	Cálcio-Calmodulina Kinase
CAT	Catalase
CK	Creatina Quinase
cm	centímetros
CO₂	Dióxido de Carbono
CS	Citrato Sintase
dL	decilitro
EDTA	Ácido Etilenodiamino Tetra-Acético
G80	Grupo Exercitado à 80% do limiar anaeróbio
G90	Grupo Exercitado à 90% do limiar anaeróbio
G100	Grupo Exercitado à 100% do limiar anaeróbio
G110	Grupo Exercitado à 110% do limiar anaeróbio
G120	Grupo Exercitado à 120% do limiar anaeróbio
GC	Grupo Controle
GK	Glicoquinase
GLUT4	Transportador de glicose
GPR81	Receptor 81 acoplado à proteína-G
H⁺	Próton

HDL		Lipoproteína de baixa intensidade
HHA		Hipotálamo-Hipófise-Adrenal
iLM		Intensidade de Lactato Mínimo
KOH		Hidróxido de Potássio
LAn		Limiar Anaeróbio
LDH		Lactato Desidrogenase
LDL		Lipoproteína de alta densidade
LPL		Lipase de Lipoproteínas
m ou min.		minutos
MCT		Transportador Monocarboxílico
MCT1		Transportador Monocarboxílico 1
MCT4		Transportador Monocarboxílico 4
MFEL		Máxima Fase Estável de Lactato
mg		miligramas
ml		mililitro
Na₂SO₄		Sulfato de Sódio
NADH		Dinucleotídeo de Nicotinamida e Adenina
PC		Peso Corporal
PEPCK		Fosfoenolpiruvato Carboxilase
PFK		Fosfofrutoquinase
pH		Potencial Hidrogeniônico
Pmáx.		Potência Máxima
s/		sem
s ou seg		segundos

SOD	Superóxido Dismutase
TAG	Triacilglicerol
TCA	Ácido Tricloroacético
TG	Triglicerídeos
T_{lim}	Tempo Limite
TLM	Teste de Lactato Mínimo
TRIMP	Impulso de Treino
U-V	Ultravioleta
uL	microlitro
VO₂max	Consumo Máximo de Oxigênio

APÊNDICES

Apêndice 1 60

-  Certificado de Participação no XXIII Congresso de Iniciação Científica da Unicamp

Apêndice 2 61

-  Effect of Isoload Acute Exercise with different volume and intensity manipulations over muscle and hepatic glycogen stores in swimming rats

Apêndice 3 63

-  Comissão de Ética para o Uso de Animais – CEUA (protocolo nº 3156-1

SUMÁRIO

1. Introdução	18
1.1. Objetivo geral	20
1.2. Objetivos específicos	20
2. Revisão de Literatura	20
3. Materiais e Métodos	34
3.1. Animais	34
3.2. Desenhos experimentais	34
3.3. Procedimentos	35
3.3.1. Adaptação ao meio líquido	35
3.3.2. Teste de Lactato mínimo	37
3.3.3. Sessão aguda de exercício	38
3.3.4. Obtenção do material biológico	38
3.4. Análises séricas	39
3.4.1. Sangue	39
3.4.2. Glicogênio Muscular (sóleo e gastrocnêmio) e Hepático	39
3.5. Análise Estatística	39
4. Resultados	40
5. Discussão	43
6. Referências bibliográficas	47

1. INTRODUÇÃO

A literatura tem apontado para a importância do exercício físico como estimulador fisiológico e biomolecular (Thompson *et al.* 2001; Gobatto *et al.*, 2001; Brum *et al.*, 2004), capaz de promover uma série de respostas fisiológicas autonômicas e hemodinâmicas que, cronicamente, podem culminar em adaptações morfofisiológicas específicas. Desta forma, as respostas fisiológicas advindas do exercício agudo e crônico são diretamente dependentes da carga de treinamento imposta (produto do volume pela intensidade de esforço), bem como do tempo de recuperação entre sessões de exercício. Neste sentido, alguns métodos foram propostos com o intuito de quantificar a carga de treinamento, aplicado à atletas ou indivíduos praticantes de exercício físico. As propostas observadas na literatura podem ser utilizadas tanto para quantificação da carga diária de treinamento (exercício agudo), quanto para estimar a carga semanal, mensal e/ou referente à algum ciclo de treinamento, projetando a ideia dessa quantificação cronicamente.

No entanto, considerando que a carga de esforço é primordialmente dependente de dois fatores (volume e intensidade) para um mesmo TRIMP (produto; *training impulse*), é possível manipularmos diferentes relações entre esses dois fatores, de tal forma que um treinamento de alta intensidade e curta duração possa representar a mesma carga de um treinamento externa à observada em estímulo de baixa intensidade e longa duração. Teoricamente, similares cargas de treinamento (carga externa) representariam mesmas respostas fisiológicas. Em contrapartida, é plausível admitir que esforços de mesma carga (isocarga) mas com diferentes manipulações de volume vs intensidade culminem em respostas fisiológicas distintas como: mobilização de ácidos graxos livres, depleção nos estoques de glicogênio muscular e hepático, mobilização protéica e de indicadores de dano muscular como níveis séricos de creatina quinase (CK) e lactato desidrogenase (LDH) (De Araújo *et al.* 2013; Costa Junior *et al.*, 2013; Foschini *et al.*, 2007).

Devido as limitações referentes a questões éticas, as possíveis intervenções e análises mais invasivas, fácil manipulação e atenuação de fatores individuais internos e externos, o uso de animais (principalmente ratos) torna-se ideal para a realização dos experimentos, já que esses apresentam respostas orgânicas frente ao exercício físico semelhantes às encontradas em humanos (Gobatto *et al.*, 2001). Neste sentido,

a natação torna-se mais aplicável por ser um modelo de menor custo financeiro e possibilitar o controle individualizado das cargas de esforço (Voltarelli *et al.*, 2002; De Araújo *et al.*, 2007). Além do fato dessa ser uma habilidade inata destes roedores, dispensa uma seleção prévia de ratos nadadores (Gobatto *et al.*, 2001), mesmo considerando a necessidade da adaptação desses roedores ao meio líquido.

Dentre os métodos utilizados para a avaliação e prescrição de exercícios físicos, o limiar anaeróbio (LAn), que representa a zona de transição metabólica entre a predominância aeróbia e anaeróbia na proveniência de energia para a manutenção do exercício, é um dos mais utilizados em humanos (Contarteze *et al.*, 2007). Nos animais, alguns protocolos que estimam o LAn foram adaptados do modelo humano, como o Teste de Lactato Mínimo (TLM), proposto inicialmente por Tegtbur *et al.* (1993) e adaptado ao modelo animal por Voltarelli *et al.* (2002). O TLM consiste numa fase de indução à hiperlactacidemia, seguida por recuperação passiva com duração de nove minutos - para alcançar o pico lactacidêmico - e uma fase de esforços incrementais até a exaustão (Tegtbur *et al.*, 1993; De Araújo *et al.*, 2007, Rodrigues *et al.*, in press). Na análise gráfica do teste entre lactato sanguíneo *versus* intensidade do exercício, a curva obtida no teste progressivo é representada por um polinômio de segunda ordem, em formato de “U”, sendo o ponto mínimo desse ajuste considerado o limiar anaeróbio. Entende-se que esse ponto representa a maior intensidade na qual a produção do lactato sanguíneo é igual a sua remoção, estimando assim a máxima fase estável de lactato (De Araújo *et al.*, 2007; Voltarelli *et al.*, 2002).

Apesar da relação entre exercício físico e diversos parâmetros fisiológicos estar bem elucidada na literatura, ainda há grandes lacunas quanto a execução do exercício em intensidades controladas sobre importantes respostas fisiológicas, como as citadas anteriormente. E ainda, há a emergente necessidade em considerar tais respostas frente à esforços agudos realizados em isocarga, com diferentes manipulações de seus fatores (volume e intensidade), haja visto o impacto dessas investigações sobre a avaliação e prescrição do treinamento físico. Assim, por meio dos resultados obtivos, torna-se possível comparar os valores das diferentes manipulações entre os grupos exercitados e em relação ao grupo controle (GC).

Nesse sentido, o principal objetivo do presente estudo, foi analisar e comparar as respostas fisiológicas advindas do exercício agudo isocarga, realizado com cinco

diferentes manipulações de volume e intensidade, mas equalizado em isocarga, tendo em vista que a intensidade foi mensurada relativa ao limiar anaeróbio, estimado por meio do TLM, em modelo de natação para animais. A apresentação dos objetivos de forma mais detalhada, está representada nos tópicos a seguir.

1.1 Objetivo geral:

Estudar os efeitos do exercício agudo isocarga com diferentes manipulações do volume e intensidade sobre parâmetros séricos (glicose sanguínea, perfil lipídico e proteína total), e teciduais (estoques de glicogênio muscular e hepático) de ratos submetidos à natação.

1.2 Objetivos específicos

1.2.1. Comparar as respostas séricas de concentração de glicose, perfil lipídico e proteínas totais advindas de uma única sessão de exercício isocarga com cinco diferentes manipulações de intensidades relativas ao LAn (80%, 90%, 100%, 110% e 120%) e respectivamente volume (37:30 min, 33:20 min, 30:00 min, 27:16 min e 25:00 min);

1.2.2. Correlacionar os níveis de depleção tecidual muscular e hepático de glicogênio em exercício isocarga com diferentes manipulações de intensidade e volume;

1.2.3. Analisar as respostas de marcadores séricos de dano muscular (CK e LDH) imediatamente após exercício agudo isocarga com diferentes manipulações de volume e intensidade.

2. REVISÃO DE LITERATURA

O Exercício físico

O exercício físico é um estímulo estressor que promove a diversas alterações fisiológicas em detrimento do esforço, em busca de uma nova condição de homeostase orgânica (Inder *et al.*, 1998; Andersen *et al.*, 2004). Já são muito bem elucidados, os diversos efeitos benéficos que o exercício físico exerce na estrutura morfofuncional de todos os tecidos, especialmente em relação ao sistema muscular esquelético. Segundo Dudley *et al.* (1982), as adaptações musculares frente ao exercício, são altamente correlacionadas com a quantidade, intensidade, distribuição

e duração das cargas de esforço. Desde então, diversos estudos tentam encontrar qual manipulação da carga é mais benéfica para uma determinada estrutura ou sistema.

Nesse sentido, Parra *et al.* (2000) encontraram em humanos que, em relação ao exercício aeróbio, o exercício de alta intensidade promovia uma melhora da performance e, ao mesmo tempo acarretava a um maior nível de dano muscular. Por outro lado, quando o tempo de descanso era maior, a melhora da performance era mais significativa na comparação entre os grupos. Thompson *et al.* (2001) mostraram que o exercício agudo contínuo reduz os níveis de TGs, enquanto aumentam os níveis de HDL. E ainda, tendo em vista que o conteúdo de TG muscular é inversamente proporcional a resistência à insulina, Pan *et al.* (1997), sugerem que o exercício de alta intensidade pode não ser a estratégia ideal para melhorar a sensibilidade à insulina, pois os AGLs são mais oxidados durante moderadas taxas de demanda energética, como o exercício prolongado (Martin *et al.*, 1996). Keast *et al.* (1988) concluíram que diferentes tipos de exercício provocam diferentes respostas imunes. De forma aguda, o exercício de alta intensidade afeta a produção de citocinas pró-inflamatórias, que se assemelham a um trauma ou infecção orgânica (Nieman *et al.*, 1990; Moldoveanu *et al.*, 2001), enquanto que, esse mesmo tipo de esforço, é muito mais efetivo em aumentar os níveis de $VO_{2máx}$, bem como de aprimorar o funcionamento mitocondrial frente a maiores esforços (Duffield *et al.*, 2006). Em um outro estudo de alta relevância, Contarteze *et al.* (2007), concluíram que, devido a sua direta relação com eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HHA), a intensidade de esforço deve ser cautelosamente controlada, já que pode promover modificações nos biomarcadores hormonais, e como consequência, influenciar fortemente as respostas fisiológicas. Por meio dos achados presentes na literatura, demonstra-se a importância das duas formas distintas nas quais o exercício pode induzir adaptações orgânicas e respostas ao estresse fisiológico: os esforços de alto volume e baixa intensidade, e os esforços de baixo volume e alta intensidade. Dessa forma, isso sugere que o controle eficaz na distribuição de diferentes protocolos de exercício, pode prover ao organismo uma razão áurea entre estímulo e efeito.

No final dos anos 80, Wasserman (1987) descreveu limitações nas ciências do treinamento, quando percebeu que os estudos até então, quantificavam os esforços de uma forma progressiva e linear, desconsiderando que a demanda energética

interna - acima do limiar anaeróbio - não responde desta mesma forma. Desde então, os estudos acerca da 'dosagem' correta de exercício físico como um estimulador não-farmacológico, vêm crescendo exponencialmente. Por exemplo, Laursen *et al.* (2007) mostraram em animais treinados, que o exercício físico de alta intensidade é uma estratégia 'tempo-eficiente' para conservar a performance em treinamentos longa duração, especialmente por aumentar o conteúdo da citrato sintase (CS) e da fosfofrutoquinase (PFK) nas fibras de contração rápida dos animais, comparando-as com o treinamento moderado. Fortalecendo tal ideia, Iaia *et al.* (2009), através de uma estratégia com 1/3 do volume de treinamento moderado, os níveis de enzimas musculares oxidativas, capilarização muscular, VO_2 máx e performance eram mantidos, demonstrando que o *high intensity training* (HIT), além de manter melhoras adaptativas, pode melhorar a economia de corrida de indivíduos que treinam utilizando exercícios moderados. Da mesma forma, estudos mostram que um exercício de alto volume é mais responsivo às adaptações por meio da ativação da proteína quinase dependente de cálcio/calmodulina (CAMK), enquanto exercícios de alta intensidade que aumentam os níveis de AMP, são mais responsivos à sinalização da biogênese mitocondrial, através da ativação da proteína quinase ativada por AMP (AMPK) (Gibala *et al.*, 2009; Laursen *et al.*, 2010). Por outro lado, os achados de Eteve-Lanao *et al.* (2007) sugerem que, em atletas altamente treinados, o exercício moderado é mais eficaz em comparação ao de alta intensidade, no sentido de aprimorar a performance e prevenir o estado de *overtraining*. Em suma, apesar de ainda divergente os achados, diversos outros estudos vêm demonstrando adaptações benéficas similares, como o aumento do potencial oxidativo (Burgomaster *et al.*, 2005) e consumo máximo de oxigênio (Overend *et al.*, 1992; Bengert *et al.*, 2006), nos dois tipos de treinamento. Portanto, os autores vêm concluindo que, a manipulação da carga de esforço (volume e intensidade), quando respeitados o período de descanso e de polimento, são a chave para otimizar o sucesso na performance (Issurin *et al.*, 2008; Pyne *et al.*, 2009; Mujika *et al.*, 2010).

Devido às limitações éticas e como tentativa à atenuar as inúmeras interferências internas e externas nas adaptações morfofuncionais, os estudos acerca da fisiologia do exercício vêm, há muito tempo, utilizando animais de laboratório, para tentar simular os efeitos do exercício físico em humanos (Geenen *et al.*, 1988), com intuito de compreender mais profundamente os mecanismos sistêmicos, celulares e

moleculares responsivos ao esforço (Lambertucci *et al.*, 2007, Carvalho *et al.*, 2005). Entretanto, apesar de inúmeros estudos utilizarem animais para entender os mecanismos fisiológicos e biomoleculares, ainda são pouco explorados, as diferentes manipulações da carga de esforço (e.g. volume e intensidade) em modelo animal, levando um grande número de estudos a não utilizar as melhores estratégias para que o exercício físico, agudo ou cronicamente, seja um estimulador terapêutico não-farmacológico de diversas condições patológicas, bem como visando o aumento da performance (Booth *et al.*, 2010).

Testes fisiológicos e ergometria para monitoramento e prescrição do exercício em modelo animal

Por razões óbvias, a individualidade biológica é um princípio fundamental do exercício físico. Nesse sentido, a exatidão na avaliação, prescrição e controle dos treinamentos tornam-se necessários, tanto em humanos (Gibala *et al.*, 2009; Iaia *et al.*, 2008) como em animais (De Araújo *et al.*, 2007; De Araújo *et al.*, 2010). Nesse sentido, foram criados diversos testes fisiológicos em modelo animal (Kainulainen *et al.*, 1989; Pierce *et al.*, 1989; Werle *et al.*, 1990; Rupp & Wall, 1990; Tan *et al.*, 1993). Dentre os diversos testes, o teste da Máxima Fase Estável de Lactato (MFEL), é considerado o padrão ouro para a determinação da intensidade de exercício, no qual há o equilíbrio entre a produção e remoção do lactato na corrente sanguínea, denominado Limiar Anaeróbio (Beneke & Von Duvillard, 1996; Papoti *et al.*, 2003; Denadai *et al.*, 2005). Esse teste em animais, foi inicialmente empregado em um modelo de natação por Gobatto *et al.*, (2001), sendo amplamente disseminado na comunidade científica, adaptado para esteira em ratos (Manchado-Gobatto *et al.*, 2005), camundongos (Ferreira *et al.*, 2007), e cavalos (Lindner, 2010), bem como em natação para camundongos (Gobatto *et al.*, 2009).

Devido à fácil manipulação, a atenuação de fatores externos e internos, e especialmente devido aos ratos terem um comportamento natural à natação (Kramer *et al.*, 1993; Gobatto *et al.*, 2001), este modelo experimental é o mais utilizado na comunidade científica. Dessa forma, renomados pesquisadores têm voltado sua atenção para enriquecer os conhecimentos acerca desse ergômetro, especialmente nessa espécie. Desta forma, devido a MFEL ser considerada o “padrão-ouro”, estudos

que visam especialmente a performance, utilizam-na como forma de avaliação e prescrição de treinamento para animais. Entretanto, apesar da fidedignidade da MFEL, ela demanda um determinado alto grau financeiro, diversos dias de testes e quantificações da cinética de lactato, além do ajuste das cargas à cada teste. Esses fatores podem ser inviáveis para animais portadores de condições patológicas e modelos de envelhecimento, bem como para pesquisadores que desejam estudar os efeitos agudos frente à uma sessão de exercício físico.

Nesse sentido um teste proposto por Tegtbur *et al.* (1993) em humanos, foi bem aceito pela comunidade científica, por possuir um relativo baixo custo financeiro, ser facilmente aplicado, determinar parâmetros aeróbios e anaeróbios numa única sessão de teste, além de ter sido validado após a comparação com a MFEL (Jones & Dousty, 1998). Então, outros autores utilizaram deste teste para a avaliação de parâmetros fisiológicos em humanos (Bacon & Kern, 1999; Simões *et al.*, 2000). Em animais, tal teste foi proposto inicialmente por Voltarelli *et al.* (2002), e aprimorado por De Araújo *et al.*, (2007). O protocolo consiste em uma inicial indução à hiperlactacidemia, realizada através de um *bout* de 30 segundos com 13% do PC do animal, um intervalo posterior de 30 segundos, seguido por um Tempo Limite (T_{lim}) até a exaustão. Após 9 minutos de descanso passivo, atinge-se o pico lactacidêmico, e então dá-se início ao teste com esforços incrementais até a exaustão. Na análise gráfica, a curva obtida no teste é representada por um polinômio de segunda ordem em formato de “U”, sendo considerado o ponto mais baixo da curva (e.g. nadir), o limiar anaeróbio (Tegtbur *et al.*, 1993; Voltarelli *et al.*, 2002; De Araújo *et al.*, 2007). Esse teste é amplamente utilizado por pesquisadores para a avaliação e prescrição de exercício para ratos (Botezelli *et al.*, 2012; De Araújo *et al.*, 2011), tendo sido recentemente validado para camundongos nadadores de ambos os gêneros (Rodrigues *et al.*, *in press*).

Por fim, é ostensível que, nos últimos 20 anos, muito vem sendo desenvolvido acerca dos efeitos do exercício físico sobre diversos fenômenos fisiológicos. Em contrapartida, ainda há grande discussão acerca dos diferentes protocolos de exercício e seus respectivos efeitos. Isto ocorre devido a grande maioria dos estudos comparar diferentes protocolos desconsiderando a ‘isocarga de esforço’, ou seja, sem igualar a quantificação de volume e intensidade para uma mesma sessão, aguda ou crônica. Há muito tempo, a literatura aponta para a dificuldade em encontrar uma

maneira eficaz de quantificar a carga de treinamento. Pensando nisso, Bannister *et al.* (1991) desenvolveram um conceito de treino, que conseguia integrar, em uma única unidade de medida, componentes dos 3 sistemas energéticos, denominado “*Training Impulse*” (TRIMP). Esse conceito foi muito disseminado no meio acadêmico e prático, como na natação (Mujika *et al.*, 1996; Mujika *et al.*, 1998), aplicado atualmente em diversos esportes, como no futebol (Moreira *et al.*, 2016), futsal (Wilke *et al.*, 2016) e basquete (Scanlan *et al.*, 2016). Em contraste, a literatura carece de estudos que utilizam o TRIMP para quantificar a carga de esforço em modelo animal, bem como, de integrar o TRIMP com uma outra valência de performance, como o consumo de oxigênio, frequência cardíaca e/ou concentrações de lactato. Cabe ainda ressaltar o brilhante trabalho de De Araújo *et al.* (2015) os quais, levando em consideração essa mesma problemática, desenvolveram um método no intuito de comparar os efeitos de diferentes protocolos de treinamento com isocarga de esforço sobre parâmetros internos e externos. Entretanto, tal isocarga era quantificada semanalmente, assim, não desvendando o enigma que paira sobre similares efeitos fisiológicos em respostas a diferentes esforço sobre uma sessão aguda de exercício.

O metabolismo do lactato e o seu mecanismo fisiológico em resposta ao esforço

Há muitos anos, o lactato foi descoberto como um metabólito do mecanismo da glicólise (Boycott & Haldane, 1908). Desde então, diversos estudos tentam aprofundar o conhecimento acerca dessa molécula e de todos os seus efeitos no metabolismo. Em 1924, Hill *et al.*, já começavam a descrever o ‘ácido láctico’ como um parâmetro para determinar intensidade de exercício. Em 1936, Bang começou a descrever a cinética do lactato em humanos submetidos à um protocolo de exercício físico. Com o passar dos anos, as investigações acerca do lactato foi crescendo. Baldwin *et al.* (1978), concluíram que o lactato é predominantemente utilizado pelas fibras oxidativas, enquanto as fibras glicolíticas tendem primariamente, a produzir o lactato como um produto final da quebra do glicogênio (Pagliassotti & Donovan, 1990). Em meado dos anos 80, Mader & Heck (1986) publicaram o conceito de “limiar anaeróbico”. Esse limiar, indicava um estado de equilíbrio fisiológico, no qual a produção e a remoção de lactato estavam em equilíbrio, e assim, um determinado indivíduo poderia se manter naquela intensidade de exercício por um período de tempo indeterminado. A partir de então, estudos se concentraram em testes fisiológicos que estimassem, com grande precisão, o metabolismo de captação e liberação do lactato pelo fígado e

tecido muscular. Dessa forma, a concentração desse metabólito, seria dependente do volume e intensidade de esforço.

Em um notável estudo, Pagliassotti & Donovan (1990), injetaram lactato em animais treinados e sedentários. Eles observaram que, nos animais sedentários, os níveis de lactato após a infusão era mais do que 2 vezes maior do que os animais treinados (*endurance*). Seus achados concluem que, os animais treinados possuem uma eficiência de treinamento muito maior em relação aos sedentários, o que pode ser explicado, sumariamente, devido ao maior conteúdo e eficiência mitocondrial dos animais ativos. Já no final do milênio, Gladden, (2000) publicou um interessante trabalho, sobre o consumo de lactato pelo músculo. Nesse estudo, o autor descreve que o lactato é diretamente dependente da intensidade de esforço, sendo que, durante um esforço de alta intensidade, a produção de lactato é muito maior do que sua capacidade de tamponamento. Quando o padrão desse exercício torna-se prolongado e de intensidade moderada, os músculos esqueléticos podem reverter tal estado. Assim, na condição de alta demanda energética, há um aumento na via da glicólise, que pelo o aumento na taxa de produção de piruvato e NADH, aumenta a produção de lactato (Richter *et al.*, 1988; Gladden, 1989; Pagliassotti & Donovan, 1990).

A cinética do lactato é tão importante para o metabolismo, que os protocolos mais aceitos de avaliação e prescrição de treinamento, especialmente de caráter aeróbio, são diretamente relacionados com a mensuração desse metabólito. Gobatto *et al.* (2001), validaram um protocolo de natação para animais, através da MFEL. Desde então, muitos outros protocolos de avaliação e de prescrição de treinamento para modelo animal foram validados, sempre comparados à MFEL, a qual representa o ‘padrão-ouro’ na comunidade acadêmica. Dentre tais protocolos, Manchado-Gobatto *et al.* (2005) validaram um teste para ratos em esteira, observando também, que a máxima concentração de lactato sanguíneo, ou seja, o limiar anaeróbio, é ‘ergômetro-dependente’ quando comparado esteira e natação (Manchado-Gobatto *et al.*, 2006). Em adição, Ferreira *et al.* (2007), validaram um protocolo de MFEL para camundongos em esteira. A pedra angular deste estudo, foi a determinação da máxima fase, mediante a um protocolo incremental, realizado em uma única sessão, no qual, por meio de um ajuste matemático tornou-se possível determinar a MFEL em camundongos através da Potência Máxima ($P_{m\acute{a}x}$). No mesmo ano, De Araújo *et al.* (2007), pensando em natação para animais, enriqueceu o Teste de Lactato Mínimo

(TLM), adaptado anteriormente à animais por Voltarelli *et al.* (2004). O elemento essencial desse estudo, foi caracterizar o exercício que promovesse um pico de lactacidemia nos animais, portanto, criando para um mesmo protocolo, parâmetros de performance aeróbia e anaeróbia, baseados na cinética do lactato.

Em contraste à ideia inicial de que o lactato era a principal causa de fadiga e término de um exercício físico, e devido às descobertas de suas ações autócrinas, parácrinas e endócrinas, Brooks, (2009) baseado na ideia de que o lactato pode ser uma molécula de sinalização celular, criou o conceito chamado de “lactormônio”. Esse conceito, fortalece os achados encontrados de que o lactato é o principal precursor da gliconeogênese durante o exercício físico (Brooks, 2009), de que ele também é responsável por inibir a lipólise através de um receptor altamente responsivo à sua presença (GPR81) (Liu *et.al.*, 2009), bem como a presença dos transportadores monocarboxílicos (MCTs) em diversos tecidos do organismo. Por fim, sua principal conclusão é de que o lactato promove a conexão entre o metabolismo glicolítico e oxidativo, devido ao fato dele ser metabólito de um e um substrato outro, respectivamente.

Cronobiologia em modelo animal e seus efeitos na performance do exercício físico

Seguindo a linha de raciocínio de que o exercício promove diversos efeitos no organismo à fim de provocar uma nova condição de homeostase, é cada vez mais importante a diminuição dos vieses que podem contribuir para uma interpretação errada de resultados obtidos. Dessa forma, apesar de há muito tempo ser utilizado experimentos com modelo animal como forma de estudar a fisiologia do exercício, a maioria dos estudos negligencia a cronobiologia dos animais, sabendo-se que roedores possuem hábitos noturnos (Beck & Gobatto, 2013). Estes autores ainda demonstram que, frente a uma sessão de exercício físico, a performance dos animais é muito mais eficiente à noite em relação ao dia. Mediante à esses dados, os autores sugerem que a maior temperatura corporal e atividade espontânea dos animais, além do menor estresse devido à manipulação ser empregada no período de vigília, induzem a maior tolerância frente ao esforço. Dessa forma, torna-se necessário levar em consideração o ritmo circadiano que os roedores apresentam, pois, apesar da grande semelhança entre humanos e animais como resposta ao exercício físico, ratos

e camundongos possuem algumas características ímpares quando comparado à humanos, como este apresentado.

Portanto, entende-se que, além da manipulação entre volume e intensidade, a hora do dia em que esse estímulo é empregado, bem como às condições ambientais e de luminosidade, são importantes parâmetros, que podem alterar ou fidedignizar os resultados encontrados dos efeitos do exercício sobre o metabolismo. Nesse sentido, Beck *et al.* (2015) utilizaram uma impressionante metodologia, controlando o ciclo circadiano dos animais através da realização do exercício físico durante o período noturno, com uma iluminação constante através de um espectro vermelho, que não ultrapassava 15 lux de incandescência. Em adição, o sistema ainda foi devidamente posicionado, para que a distância entre o foco luminoso e a posição na qual os animais realizavam o exercício de natação fosse semelhantes para todos os grupos, proporcionando a mesma luminescência individualmente proporcionalizada. E, por meio de seus achados, os autores sugerem que os animais não sejam submetidos a sessões de exercício físico em condições estressantes, ou seja, de que quaisquer protocolos que envolvam o exercício físico em animais roedores, sejam realizados durante o período noturno e sob a iluminação adequada.

Resposta inflamatória, dano muscular e adaptações fisiológicas frente ao esforço

Sabidamente, o treinamento físico promove uma melhor resposta dos mecanismos contra o estresse muscular e oxidativo, aumentando a expressão e a atividade de enzimas antioxidantes, como a Superóxido Dismutase (SOD) e a Catalase (CAT) (Pinho *et al.*, 2006). Da mesma forma, já é bem elucidado na literatura, que a sessão aguda de exercício, promove uma resposta de dano muscular e o aumento do estresse oxidativo. Por outro lado, essas sessões quando realizadas de uma forma crônica e planejada, modifica a capacidade antioxidativa do organismo (Jenkins, 2007; Sjodin *et al.*, 1990; Quiroga, 1992). Pereira *et al.* (1994), sugeriram que o exercício em esteira é mais eficiente do que o exercício em natação no intuito de estimular a capacidade antioxidante do organismo, fortalecendo a ideia de Laughlin *et al.* (1990) os quais sugeriram que a intensidade, duração e tipo ergômetro utilizado, podem modificar as respostas frente ao esforço.

Em relação ao dano muscular, os níveis de CK e LDH são os mais estudados no meio científico (Armstrong, 1986; Ebbeling & Clarkson, 1989; Clarkson & Trembley, 1988). Alguns estudos elucidaram que, em resposta ao exercício excêntrico, o rompimento do tecido muscular é visto imediatamente pós exercício (Armstrong, 1983; Newham *et al.* 1983; Clarkson & Trembley, 1988), sendo que os níveis de lesão tecidual atingem seu pico com 48h pós esforço (Fridén, 1984).

Nesse sentido, a fisiologia do exercício vem tomando os níveis de creatina quinase (CK), como um bom marcador de dano muscular (Braccacio *et al.*, 2007), por ser uma enzima que não possui capacidade de ultrapassar a membrana plasmática, sendo assim, sua mensuração sérica pode ser correlacionada com dano tecidual. E assim como os diversos outros parâmetros apresentados na presente revisão, os níveis de CK também são altamente correlacionados com o protocolo empregado de exercício físico (Ohkuwa *et al.*, 1984; Klapcinska *et al.*, 2001). Por exemplo, estudos mostraram que os maiores níveis séricos de CK, são encontrados após exercícios ultraprolongados (Nuviala *et al.*, 1992; Denvir *et al.*, 1999) e de alta intensidade (Lanzarim *et al.*, 2009).. Em 2007, Foschini *et al.* (2007) revisaram a literatura acerca de estudos que relacionam dano muscular e Dor Muscular de Início Tardio (DMIT). Corroborando com outros autores e outros efeitos fisiológicos, os níveis das enzimas marcadoras de ambos, são mais presentes nas contrações excêntricas, no exercício de força e de alta intensidade, bem como em corrida no plano declinado (Foschini *et al.*, 2007).

Em animais, Wu *et al.* (2007) utilizaram um modelo de natação para camundongos, com uma carga de 8% do PC dos animais, nadando até a exaustão. Protocolo que também foi utilizado por Sussai *et al.* (2011), no intuito de o exercício aumentar os níveis plasmáticos de CK. É interessante ressaltar o estudo de Ramos *et al.* (2013) que, ao estudar marcadores de estresse e dano muscular após uma sessão aguda de natação em animais, concluíram que os marcadores plasmáticos de estresse oxidativo são primeiramente encontrados no fígado, não no músculo dos animais. E ainda, corrobora um achado muito interessante, com de outros artigos: o fato de que a lesão muscular está altamente relacionada com o nível de contrações excêntricas, e dessa forma, alguns tipos de exercício (como a natação), possuem menores componentes excêntricos, levando a um menor dano mecânico, e

consequentemente, a um menor nível sérico de CK e LDH (Noakes 1987; Komulainen *et al.* 1995; Ramos *et al.*, 2013).

Efeitos do exercício no metabolismo da glicose e nos estoques de glicogênio muscular e hepático em modelo animal

Há muito tempo, o conteúdo dos estoques de glicogênio muscular, bem como o metabolismo da glicose hepática e muscular, é largamente estudado na literatura por inúmeros pesquisadores. Bergstrom & Hultman (1966) demonstraram que após o exercício, a ressíntese de glicogênio acontece, interessantemente, apenas nos músculos que foram exercitados, sem afetar outros grupos musculares. Um ano depois estudaram o metabolismo do glicogênio em resposta ao exercício exaustivo. Os autores encontraram, que após a exaustão, os estoques de glicogênio são quase completamente depletados (Bergstrom & Hultman, (1967). No mesmo ano, um outro artigo do grupo foi publicado, elucidando que os estoques de glicogênio nos músculos primariamente exercitados, são determinantes para a performance dos indivíduos durante um exercício (Bergstrom *et. al.*, 1967).

Com o passar dos anos e o desenvolvimento de novas tecnologias e abordagens, um estudo muito interessante foi realizado por Ren *et al.* (1994). Os autores demonstram o metabolismo de sinalização intracelular para captação da glicose, dando grande ênfase ao GLUT4, a molécula transportadora da glicose no tecido muscular. Durante o exercício, os estoques intracelulares de GLUT4 se deslocam para a membrana celular, aumentando a disponibilidade de glicose como fonte energética. Os autores ressaltam que, o aumento da demanda energética e a consequente entrada de glicose nas células musculares, podem causar uma depleção exacerbada nos estoques de glicogênio hepático, resultando em um possível estado de hipoglicemia e consequente fadiga frente ao esforço. Dessa forma, uma das adaptações do treinamento físico, seria promover a biogênese mitocondrial, pelo maior número de mitocôndrias musculares, bem como a melhora da sua funcionalidade envolvendo a oxidação dos ácidos graxos, e portanto, prorrogando a utilização do glicogênio, e consequentemente melhorando a performance. No mesmo ano, Hawley, (1994), elucidou que as reservas de glicogênio no organismo são limitadas, enquanto as reservas de lipídios são largamente superiores. Assim, uma estratégia interessante seria, ao mesmo tempo de aumentar a oxidação dos lipídios

como fonte energética, aumentar a biodisponibilidade da glicose para tecidos nos quais são mais dependentes deste substrato. O subsequente metabolismo da glicose e dos ácidos graxos frente ao esforço, já foi largamente estudada e é bem elucidado na literatura (Coyle, 2007; Hirabara *et al.*, 2006).

Entretanto, ainda há divergência em saber o mecanismo que regula a preferência pelo metabolismo da glicose ou pelo metabolismo de lipídeos frente ao esforço. Segundo Silveira *et al.* (2012), a hipótese mais aceita é de que a demanda energética do exercício controla essa utilização, através do ciclo glicose-ácido-graxo, conhecido como “Ciclo de Randle”. Esse mecanismo é regulado principalmente pelo citrato. Segundo esse estudo, o acúmulo desse substrato inibe a atividade da fosfofrutoquinase (PFK), diminuindo o fluxo da via glicolítica para a demanda energética. Enquanto que, um aumento nas concentrações de AMP (devido à degradação do ATP para a geração de energia), reduz esse efeito inibitório da PFK, favorecendo novamente o fluxo glicolítico como fonte de energia celular (Silveira *et al.*, 2012, Randle *et al.*, 1967).

Por fim, atualmente muitos estudos vêm sendo explorados no intuito de encontrar, no exercício físico, um potente estimulador não-farmacológico no tratamento de diversas condições patológicas (Marliss & Vranic, 2002; Petersen *et al.*, 2004; Riddell, 2012). McDonald *et al.* (2016), estudou em animais com DM1, os efeitos glicorregulatórios em resposta ao exercício de alta intensidade. Após 10 semanas de treinamento físico, os autores não encontraram um aumento nos estoques de glicogênio hepático, no entanto, encontraram um aumento na atividade de proteínas responsáveis pela glicogênese hepática, como a glicoquinase (GK) e a fosfoenolpiruvato carboxilase (PEPCK). Esses resultados contraditórios, sugerem que outros fatores estão envolvidos na melhora dos estoques de glicogênio hepático, e que esses fatores podem estar alterados em animais diabéticos. Todos esses dados, nos sugerem que, além dos mecanismos intracelulares frente a patologias e comorbidades, é necessário também entender minuciosamente os mecanismos intracelulares que são regulados por cada intensidade de exercício, especialmente àquelas próximas à zona de transição metabólica (limiar anaeróbio), tanto de forma crônica, mas especialmente de forma aguda. Dessa forma, possibilitando um maior subsídio científico a toda comunidade acadêmica e profissional.

A modulação do perfil lipídico em resposta ao exercício físico

No final dos anos 80, Hurley (1989) publicou um excelente trabalho, demonstrando os efeitos do exercício resistido, de forma aeróbia e anaeróbia, sobre o perfil lipídico das lipoproteínas. Nesse estudo, ele observou que um programa com diferentes manipulações da carga de esforço (volume, intensidade e frequência dos estímulos), promove modificações benéficas no perfil lipoproteico. Um outro estudo interessante, foi realizado por King *et. al.* (1995), que após comparar protocolos de treinamento com diferentes intensidades de exercício, encontrou uma melhora significativa no perfil das lipoproteínas de alta densidade, quando comparado com indivíduos que realizaram o treinamento em maiores intensidades. De encontro à estes achados, Sunami *et. al.* (1999), apontaram que um programa de 5 meses de treinamento aeróbio, promoveu significativa melhora nos níveis de HDL-colesterol em idosos saudáveis.

Nesse sentido, efeitos agudos do exercício sobre o perfil lipídico de lipoproteínas, também foram encontrados em humanos (Frey *et. al.*, 1993; Gordon *et. al.*, 1994). Já em atletas, segundo Sánchez-Quesada *et. al.*, (1997), o metabolismo possui uma maior resistência as modificações oxidativas no perfil lipídico, quando comparado a indivíduos sedentários. Prado e Dantas (2002) afirmam que diferentes protocolos de exercício físico favorecem o metabolismo lipídico, especialmente os níveis de HDL e LDL-colesterol. Em adição, sugere que exercícios numa faixa de intensidade moderada, com duração de aproximadamente 30 minutos, seria o mais recomendado para induzir tais modificações lipoproteicas.

Belmonte e Aoki (2005), demonstram que o Triacilglicerol (TAG) é preferencialmente encontrado nas fibras musculares de contração lenta, especialmente nas adjacências das mitocôndria. Assim, o exercício que promova um aumento da densidade mitocondrial, pode levar a melhor utilização desses estoques celulares como fonte energética, além de aumentar a capacidade de armazenamento desses estoques dentro do músculo esquelético. Esses achados corroboram com o posterior estudo de Lima-Silva *et. al.*, (2006), o qual sugere que os estoques de triglicerídeos intramuscular podem ter uma maior eficiência na disponibilidade de energia, devido ao fato de que esse substrato não depende de seu transporte para o meio intracelular. Este estudo ainda levanta a ideia de que a utilização dos percentuais

de $VO_{2\text{máx}}$ para a avaliação da intensidade de exercícios é limitada, portanto, utilizar o limiar anaeróbio seria uma alternativa mais fidedigna, no intuito de individualizar a intensidade de esforço. Em 2013, Pandareesh & Anand demonstraram que, a suplementação com L-Carnitina (um carreador muito importante no metabolismo oxidativo), promove uma maior resistência à fadiga quando comparado com animais controle. Ainda, essa suplementação minimizou a utilização do glicogênio hepático, aumentando a oxidação dos AGLs e assim, poupando a utilização da glicose como fonte energética, melhorando, por esse e outros mecanismos - como a diminuição do estresse oxidativo - a performance desses animais.

Todos esses estudos apresentam diversos efeitos sobre o metabolismo lipídico de humanos e animais. Nesse sentido, ainda há lacunas na literatura acerca da relação ótima entre diferentes manipulações de carga de esforço. Dessa forma, fazendo-se necessário maiores estudos que desenvolvam protocolos de exercícios agudo e crônico, com diferentes manipulações na intensidade de esforço, sobre os parâmetros fisiológicos e mecanismos moleculares, no intuito de esclarecer a comparação entre as diferentes intensidades e seus respectivos efeitos.

Por último, a presente revisão de literatura tentou sumarizar os achados e elucidar as lacunas ainda presentes no meio acadêmico. Dessa forma, o objetivo do estudo foi tentar esclarecer da melhor maneira possível, diferentes respostas autonômicas, hemodinâmicas e musculares em resposta à diferentes protocolos de exercício físico, em modelo de natação para ratos. Em adição, a pedra angular desse estudo, baseia-se na equalização de isocargas de esforço, realizado nas diferentes manipulações empregadas. Aventamos à posteriores estudos, a necessidade de se igualar a carga externa empregada em humanos e animais, diminuindo o risco de más interpretações, e enriquecendo a fidedignidade de futuros resultados.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Animais

Foram utilizados ratos albinos da linhagem *Wistar*, provenientes do Centro Multidisciplinar para Investigação Biológica na Área da Ciência em Animais de Laboratório – *CEMIB/UNICAMP* e mantidos no Biotério da Faculdade de Ciências

Aplicadas - FCA/UNICAMP. Os animais foram alojados em gaiolas de polipropileno, com cinco ratos por gaiola, e essas mantidas em gaioleiro climatizado ($22 \pm 2^\circ \text{C}$) da marca Alesco®. O ambiente apresentava condições controladas, com umidade relativa do ar entre 45 e 55%, iluminação em ciclo claro/escuro 12/12h (luz acesa das 6 às 18h), alimentados com ração balanceada Nutrilab® para roedores e água *ad libitum*. Os ruídos do ambiente não poderiam ultrapassar os 85 decibéis sob qualquer hipótese, evitando qualquer tipo de estresse externo para os animais ali presentes. Com o intuito de respeitar o período de vigília dos animais, todos os procedimentos experimentais foram realizados após as 18h, quando as luzes do biotério estavam apagadas. Para reduzir a percepção dos animais à luz e possibilitar a visibilidade dos pesquisadores, nos ambientes onde os animais foram manipulados e exercitados, fora utilizada uma lâmpada com filtro vermelho e corte espectral em 600nm, com luminosidade controlada abaixo de 70 lux (Beck *et. al.*, 2014). O experimento foi realizado de acordo com a legislação brasileira corrente e as normas do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal, os quais foram rigorosamente seguidas. O estudo foi previamente aprovado por uma Comissão de Ética para o Uso de Animais – CEUA (protocolo nº 3156-1, anexado no Apêndice 3).

3.2 Desenho Experimental

Ao completar 46 dias de idade, os animais foram submetidos a uma adaptação ao meio líquido durante 14 dias. Em seguida, os ratos realizaram o Teste de Lactato Mínimo (TLM) para estimar a intensidade de limiar anaeróbico (LAn). Após o período de 48h, os animais foram distribuídos em seis grupos: controle (GC [não exercitado]) e exercitados (GE80, GE90, GE100, GE110 e GE120 [exercitados a 80, 90, 100, 110 e 120% do LAn, respectivamente]). A duração dos esforços oscilou de acordo com a intensidade para que todos os grupos experimentais realizassem esforços isocarga (i.e. o volume variou de 25min a 37min e 30s, para que o produto volume x intensidade fosse equivalente).

Os animais dos grupos exercitados foram eutanasiados imediatamente após a realização da sessão aguda de exercício, enquanto os ratos do grupo controle foram imediatamente após 30 segundos de contato com a água, sem adição de

carga. Foram coletadas amostras de tecido muscular (sóleo e gastrocnêmio) e hepático, para posterior análise dos níveis de depleção de glicogênio. Em adição, foram coletados 2ml de sangue por punção cardíaca, para posterior determinação dos níveis séricos de glicose, perfil lipídico, proteínas totais, CK e LDH. A figura 1 ilustra o desenho experimental realizado.

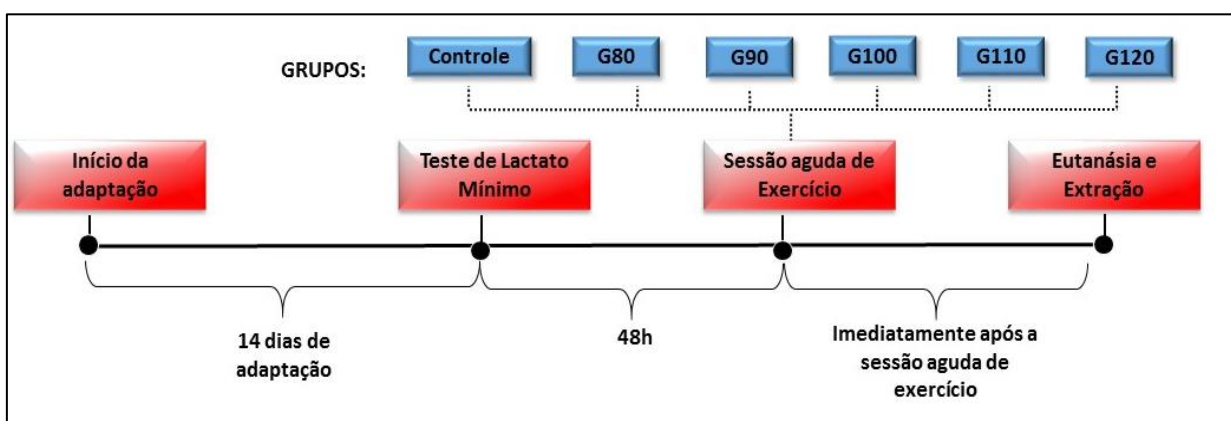


Figura 1: Sequência cronológica do experimento: Período de 14 dias de adaptação à partir dos 46 dias de idade dos animais; Realização do Teste de Lactato Mínimo; Realização dos esforços em isocarga sob diferentes intensidades (grupos exercitados [GE]); Eutanásia dos ratos de todos os grupos imediatamente após a realização do esforço, para a extração e posterior análise dos dados.

3.3 PROCEDIMENTOS

3.3.1 Adaptação ao meio líquido

Para todos os grupos experimentais, a adaptação ao meio líquido ocorreu no período total de 14 dias ininterruptos, com a temperatura da água mantida a $33\pm 1^{\circ}\text{C}$. Os procedimentos de adaptação ao meio líquido aplicados aos grupos experimentais foram similares até o 8º dia. Nesse sentido, inicialmente, os ratos foram inseridos em água rasa por curto período temporal e, subsequentemente, acréscimos na duração do estímulo e profundidade da água foram efetuados. A tabela 1 apresenta, de modo detalhado, a caracterização dos procedimentos de adaptação ao meio líquido que foram adotados no presente estudo (método baseado no estudo de Lima *et al.* (*in press*)).

Tabela 1. Organização do período de adaptação realizada no experimento.

Dia	Adaptação com estímulos supra limiar
1	Água rasa (3cm) 15 minutos s/ carga
2	Água rasa (3cm) 15 minutos s/ carga
3	Água rasa (3cm) 15 minutos s/ carga
4	Água profunda (100cm) 2 minutos s/ carga
5	Água profunda (100cm) 4 minutos s/ carga
6	Água profunda (100cm) 6 minutos s/ carga
7	Água profunda (100cm) 8 minutos s/ carga
8	Água profunda (100cm) 10 minutos s/ carga
9	Água profunda (100cm) 5 minutos c/ 3%PC
10	Água profunda (100cm) 3 minutos c/ 5%PC + 5 minutos s/ carga
11	Água profunda (100cm) 1 minutos c/ 9%PC + 5 minutos s/ carga
12	Água profunda (100cm) 1 minuto c/ 11%PC + 5 minutos s/ carga
13	Água profunda (100cm) 30s minuto c/ 13%PC + 5 minutos s/ carga
14	Água profunda (100cm) 30s c/ 15%PC + 5 minutos s/ carga

3.3.2 Teste de Lactato Mínimo

Para a determinação dos parâmetros aeróbio e anaeróbio em uma única sessão, reproduziu-se o TLM de acordo com o teste original em natação para ratos, proposto por Voltarelli *et al.* (2002), com a fase de indução hiperlactacidêmica adaptada por De Araújo *et al.* (2011). Em resumo, o teste é composto por uma fase de indução à hiperlactacidemia, realizado por um esforço de 30 segundos e outro esforço até a exaustão (ambos com carga relativa a 13% do peso corporal), separados por 30 segundos de intervalo; repouso passivo com duração de nove minutos (para alcance do pico de lactato sanguíneo); e protocolo de cargas

incrementais para determinação da intensidade em que se observe a menor lactacidemia, representando a maior intensidade de equilíbrio entre a produção e remoção de lactato (Ledesma et al., 2007; De Araújo et al., 2013) (ver figura 2). Desta forma, a intensidade do lactato mínimo (iLM) foi utilizada como parâmetro individualizado de capacidade aeróbia e o tempo até exaustão durante a fase de indução, como parâmetro anaeróbio.

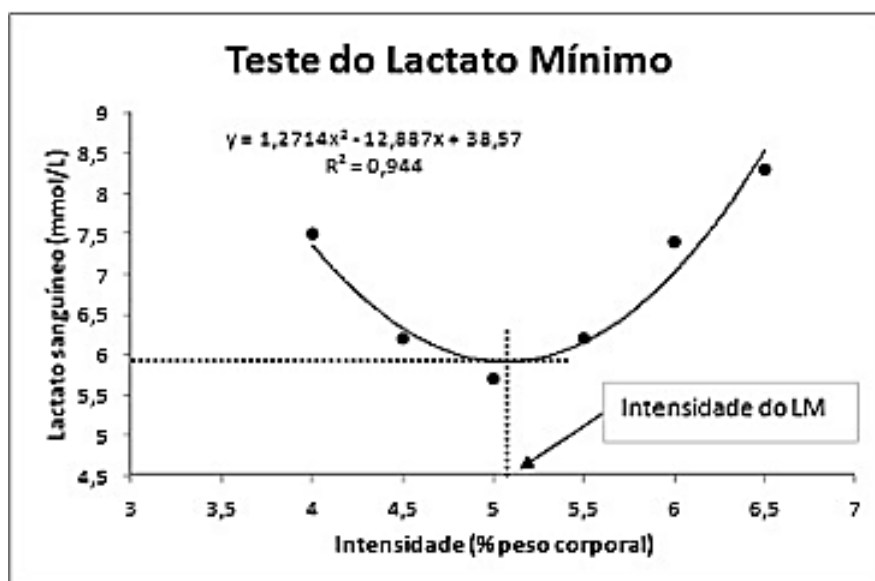


Figura 2: Representação gráfica do Teste de Lactato Mínimo (TLM); determinação da intensidade na qual se observa melhor o valor de lactacidemia durante a fase incremental, caracterizando assim a intensidade do limiar anaeróbio.

3.3.3. Sessão aguda do exercício

Os ratos foram aleatoriamente distribuídos nos 6 grupos experimentais (GC, G80, G90, G100, G110, G120) os quais realizaram esforços isocarga com diferentes manipulações do volume-intensidade. A carga de esforço foi calculada a partir produto da intensidade (% LAn) pelo volume (segundos). Exemplo: 100% x 1800seg = 180000, sendo que, para as outras intensidades inferiores ou superiores, o volume (duração) foi alterado de forma à se manter a carga final de esforço (180000). A tabela 2 demonstra os valores calculados de volume-intensidade, para cada grupo.

Tabela 2. Variação dos valores de volume em minutos e segundos, de acordo com a intensidade de cada grupo, para alcançar a isocarga de esforço (TRIMP).

Intensidade (%LAn)	Duração (s)	Duração (h)	TRIMP
80	2250	00:37:30	180000
90	2000	00:33:20	180000
100	1800	00:30:00	180000
110	1636,4	00:27:16	180000
120	1500	00:25:00	180000

3.3.4. Obtenção de material biológico

Os animais foram anestesiados com Tiopental sódico e eutanasiados via toracotomia. A partir de punção cardíaca, amostras de sangue foram coletadas e centrifugadas para posterior coleta de sobrenadante que era armazenado em alíquotas de soro (200 a 500µL) em tubos plásticos de 1,5ml em ultrafreezer -80°C, para posteriores análises. Foram também extraídas amostras de tecido muscular esquelético (sóleo e gastrocnêmico) e hepático, os quais foram imediatamente depositados em tubos de ensaio contendo KOH à 30% e armazenados em freezer -20 °C. Todo o procedimento de coleta do material biológico não ultrapassou dez minutos.

3.4 Análises realizadas

3.4.1 Sangue

Para a determinação da concentração de lactato durante o TLM, amostras de sangue (25 µL) foram coletadas da porção distal da cauda dos animais utilizando tubos capilares heparinizados calibrados. As coletas foram realizadas após a fase de indução à hiperlactacidemia, e também após cada estágio do teste progressivo. As amostras foram imediatamente transferidas para tubos plásticos de 1,5mL contendo 400 µL de TCA (Ácido tricloroacético - 4%) para desproteinização do sangue. Posteriormente, foi extraído 100µL de sobrenadante e transferidos para tubos de ensaio contendo 500µL de reativo (estoque glicina/EDTA e hidrazina-

hidrato 1,2ml, 100mg de NAD (Beta-nicotinamide dinucleotide SIGMA) e 150µL de LDH (L-lactic dehydrogenase bovine heart)) devidamente ajustadas a um pH de 8,85. As amostras foram lidas a 340nm contra a curva de calibração. Os demais procedimentos analíticos ficaram condicionados às normas dos fabricantes dos kits comerciais para análises bioquímicas, adquiridos posteriormente e realizados em leitura U-V de microplacas. Foram determinadas as concentrações séricas de glicose, triglicerídeos, LDL, HDL, proteínas totais, creatina-quinase e lactato desidrogenase.

3.4.2. Glicogênio muscular (glúteo e gastrocnêmio porção vermelha) e hepático

Frações pesando entre 200-250 mg do músculo sóleo e gastrocnêmio e 500 mg do fígado foram retiradas imediatamente após o sacrifício e foram digeridas em KOH durante 20 minutos. Posteriormente, foram adicionadas solução saturada de Na₂SO₄ e o glicogênio foi precipitado por meio de duas passagens utilizando etanol fervente, seguida de centrifugação. A determinação colorimétrica foi realizada com a adição de fenol a 80% e ácido sulfúrico concentrado, após fervura de 15 minutos. A absorbância foi mensurada em espectrofotômetro 490nm.

3.5 Análise Estatística

A estatística descritiva foi composta pela apresentação dos dados em média $\pm$ desvio padrão. Os dados passaram por uma prévia análise de normalidade por meio do teste de *Shapiro-Wilk*, em seguida, análises paramétricas foram utilizadas para estabelecer o diagnóstico dos resultados. Para a determinação de possíveis diferenças entre as médias das variáveis dependentes (lactacidemia, parâmetros séricos [exemplos: glicemia e triglicerídeos] e estoques de glicogênio para as os diferentes grupos (GC, G80, G90, G100, G110 e G120 [variáveis independentes]), foi utilizada a análise de variância *one-way* para amostra independentes. Para todas as análises, o nível de significância foi fixado em 5% ($p < 0,05$).

4. RESULTADOS

Na tabela abaixo estão apresentadas as médias dos valores de peso corporal; intensidade relativa ao limiar anaeróbio (LAn, determinada pelo TLM) mostradas em

percentual da massa corporal (%MC); lactacidemia referente ao LAn (LM) e o Tempo Limite (Tlim) realizado durante a fase de indução hiperlactacidêmica (indicador de aptidão anaeróbia).

Tabela 1: Média $\pm$ desvio padrão dos valores da massa corporal dos animais, intensidade do LAn (%MC), lactacidemia do LAn (mMol/L), tempo limite com a carga de 13% do peso corporal (s). Resultados expressos como média + desvio padrão.

	Média $\pm$ desvio padrão
Peso (g)	299,2 $\pm$ 14,3
Intensidade (%MC)	5,2 $\pm$ 0,4
Lactato sanguíneo (mmol/L)	4,3 $\pm$ 1,5
Tlim 13%PC (s)	91,5 $\pm$ 24,8

Na tabela 2, estão os resultados obtidos, na análise do lactato sanguíneo pré e pós a realização do exercício agudo isocarga. Observa-se que antes da realização do exercício, não há diferenças significativas entre os grupos. Entretanto, pós-esforço observa-se valores ligeiramente superiores nos grupos exercitados nas intensidades supra limiar. Contudo, apesar da visual diferença, a mesma não foi comprovada de estatisticamente.

Tabela 2: Resultados das amostras de lactato sanguíneo pré e pós o exercício agudo realizado.

Lactato (mmol/L)	GC(controle)	G80	G90	G100	G110	G120
Pré – esforço	1,9 $\pm$ 0,4	1,4 $\pm$ 0,3	1,5 $\pm$ 0,3	1,4 $\pm$ 0,5	1,4 $\pm$ 0,4	1,5 $\pm$ 0,6
Pós – esforço	-	1,7 $\pm$ 0,6	1,9 $\pm$ 0,8	2,2 $\pm$ 1,1	2,3 $\pm$ 1,5	2,6 $\pm$ 1,9

Resultados expressos como média $\pm$ desvio padrão.

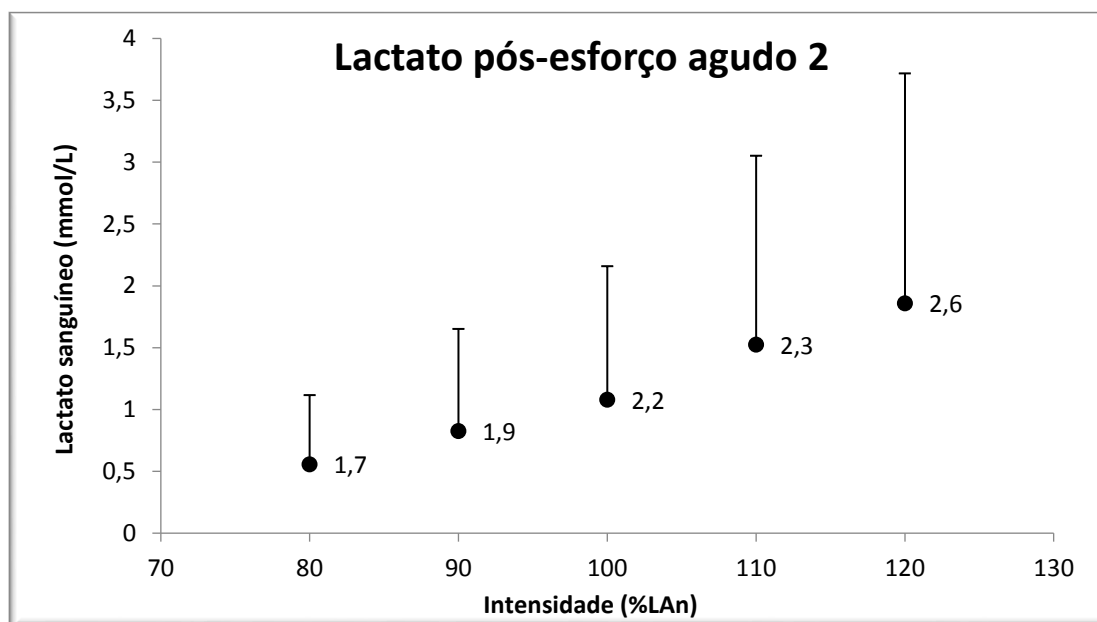


Figura 3: Resultados de lactacidemia apresentado graficamente, dos grupos exercitados durante a sessão aguda de esforço.

4.2.1. Sessão aguda de exercício

Também foram determinadas as concentrações séricas dos mesmos parâmetros do primeiro experimento [lactato sanguíneo, glicose, triglicerídeos (TG), lipoproteínas de baixa (LDL) e alta densidade (HDL), proteínas totais, albumina, creatina-quinase (CK) e lactato desidrogenase (LDH)], entretanto, sendo extraídos imediatamente após a sessão de exercício. A glicemia só alterou estatisticamente nos grupos G90 e G120. Os valores de dano muscular (CK-NAC) foram significativamente inferiores nos grupos exercitados em intensidades supra limiar, bem como os valores de CK-MB, no qual houve significante redução dos grupos em relação grupo controle. Os valores de proteínas totais e ureia não foram estatisticamente diferentes dentre os grupos. As concentrações séricas de ácido úrico do G120 apresentaram elevados níveis em comparação aos outros grupos. Também, os níveis de LDH estiveram significativamente reduzidos nos grupos G100, G110 e G120 em relação ao grupo controle. Os valores encontrados referentes ao experimento, estão representados na tabela abaixo.

Tabela 3: Resultados dos parâmetros séricos imediatamente após a realização do exercício agudo dos grupos experimentais.

	GC(controle)	G80	G90	G100	G110	G120
Glicose (mg/dL)	143,3 ± 21,5	150,5 ± 40,5 ^a	169,4 ± 30,1	149,7 ± 36,3	144,6 ± 28,5	177,6 ± 21,1 ^a
LDL (mg/dL)	9,8 ± 6,9	6,2 ± 4,9	11,7 ± 7,1	10,7 ± 7,6	12,3 ± 7,0	12,4 ± 8,1
HDL (mg/dL)	15,4 ± 7,3	21,2 ± 7,3	16,3 ± 8,2	17,4 ± 5,8	17,9 ± 4,9	17,4 ± 6,3
Coolest. Tot. (mg/dL)	32,3 ± 5,1	36,7 ± 7,8	36,0 ± 7,2	38,0 ± 8,2	34,8 ± 12,4	38,2 ± 6,6
Triglicerídeos (mg/dL)	57,1 ± 20,9	59,6 ± 22,3	56,3 ± 19,1	49,5 ± 17,4	42,9 ± 19,5	49,9 ± 18,6
Prot. Totais (g/dL)	4,6 ± 0,5	4,8 ± 0,6	5,2 ± 0,8	4,5 ± 0,8	4,8 ± 0,7	5,5 ± 2,2
Albumina (g/dL)	2,2 ± 0,5	2,2 ± 0,4	2,3 ± 0,5	2,4 ± 0,4	2,5 ± 0,3	2,5 ± 0,4
CK-NAC (U/L)	146,1 ± 97,6	142,5 ± 71,9	152,0 ± 116,6	92,4 ± 47	85,1 ± 34,2	83,0 ± 37,6
CK-MB (U/L)	180,7 ± 63,8	126,3 ± 68,3	101,4 ± 54,2	105,1 ± 64,1	109,8 ± 53,0	132,9 ± 35,2
LDH (U/L)	892,1 ± 216	697,5 ± 235	719,4 ± 184	537,5 ± 304 ^a	518,9 ± 231 ^a	421,3 ± 226 ^a
Ác. Úrico (mg/dL)	1,4 ± 0,4	1,2 ± 0,4	1,3 ± 0,3	1,1 ± 0,3	1,2 ± 0,3	1,8 ± 0,7 ^{abcde}
Ureia (mg/dL)	52,6 ± 21,7	51,1 ± 8,0	57,6 ± 13,1	62,0 ± 13,1	51,6 ± 19,8	53,2 ± 8,4

^a p < 0.05 em relação ao GC; ^b p < 0.05 em relação ao G80; ^c p < 0.05 em relação ao G90; ^d p < 0.05 em relação ao G100; ^e p < 0.05 em relação ao G110.

Os estoques de glicogênio tecidual tanto no gastrocnêmio quanto no glúteo não foram significativamente alterados em função do exercício físico. Já no fígado, apenas os grupos supra limiar [G110 e G120] apresentaram grandes alterações nos estoques de glicogênio em comparação ao controle. A Tabela 4 apresenta os resultados obtidos na análise do glicogênio muscular, dos músculos esqueléticos glúteo e gastrocnêmio (porção vermelha) e hepático, referentes ao experimento.

Tabela 4: Resultados de glicogênio muscular e hepático extraídos imediatamente após a realização do exercício.

	GC(controle)	G80	G90	G100	G110	G120
Gastrocnêmio (mg/100mg)	0,32 $\pm$ 0,25	0,31 $\pm$ 0,18	0,33 $\pm$ 0,20	0,28 $\pm$ 0,18	0,25 $\pm$ 0,15	0,28 $\pm$ 0,19
Glúteo (mg/100mg)	0,25 $\pm$ 0,21	0,19 $\pm$ 0,06	0,18 $\pm$ 0,08	0,15 $\pm$ 0,02	0,18 $\pm$ 0,10	0,36 $\pm$ 0,30
Fígado (mg/100mg)	2,03 $\pm$ 0,75	1,60 $\pm$ 0,58	1,24 $\pm$ 0,62	1,41 $\pm$ 0,98	0,77 $\pm$ 0,5*	0,98 $\pm$ 0,83*

* p < 0,05 em relação ao GC.

5. DISCUSSÃO

Para melhor conhecimento, esse é o primeiro estudo a investigar os efeitos agudos de diferentes manipulações do volume e intensidade mantendo o esforço em isocarga, sendo as intensidades individualizadas relativas ao limiar anaeróbio, sobre biomarcadores fisiológicos e de performance aeróbia/anaeróbia em ratos. Apesar de diferentes estratégias nas adaptações e oscilações entre volume e intensidade durante um programa de treinamento serem bem elucidadas na literatura (Kraemer, 1974; Matveev, 1981; Issurin, 2008), é necessário conhecer cada única sessão de treinamento e o que podem promover a nível biomolecular e morfofuncional no organismo. Nesse sentido, sabe-se que em intensidades moderadas, o organismo apresenta homeostase, já que a demanda energética pode ser mantida predominantemente pelo metabolismo aeróbio (Gaesser & Poole, 1996; Manchado *et al.*, 2006a). Já em exercícios mais intensos, acima do limiar lactacidêmico, ocorre a predominância do metabolismo anaeróbio, resultando em diversas alterações fisiológicas devido ao aumento da produção de lactato e acidez metabólica (Gaesser & Poole, 1996). A identificação dessa intensidade máxima de esforço no qual ocorre um equilíbrio entre a produção e a remoção da concentração de lactato é amplamente discutida em diversos estudos, e atualmente ganhou grande importância fisiológica (Manchado *et al.*, 2006a; Ledesma *et al.*, 2007). A delimitação dessa zona de transição metabólica está

relacionada com a máxima fase estável de lactato (MFEL), que é considerada padrão-ouro para a identificação da capacidade aeróbia (Jones & Carter, 2000; Manchado *et al.*, 2006b), fazendo com que muitos estudos utilizem tal procedimento para a avaliação de atletas de alto rendimento (Harnish *et al.*, 1994; Beneke, 2003; Voltarelli *et al.*, 2003). Entretanto, tal procedimento requer diversos testes realizados durante mais de duas semanas, o que pode prejudicar sua aplicação em certas condições, o que levou os pesquisadores à busca de métodos alternativos para predizer a MFEL. O Teste de Lactato Mínimo (TLM), inicialmente proposto por Tegtbur *et al.* (1993), e adaptado ao modelo animal (Voltarelli *et al.*, 2002; Rodrigues *et al.*, *in press*), representa um potente procedimento alternativo que tem alta relação com a MFEL e que pode determinar parâmetros aeróbios e anaeróbios em um único protocolo (De Araújo *et al.*, 2007). Em nosso estudo, os valores encontrados referentes ao limiar anaeróbio ($4,2 \pm 1,3$ mmol/L) são ligeiramente menores do que os já elucidados na literatura. Entretanto, a intensidade [%MC] do limiar ($5,2 \pm 0,5$), são muito semelhantes aos achados de outros estudos (Gobatto *et al.*, 2001; De Araújo *et al.*, 2007; Manchado *et al.*, 2006b; Voltarelli *et al.*, 2002), o que demonstra a reprodutibilidade deste protocolo.

A partir de uma determinada intensidade, a alta demanda energética promove aumentos desproporcionais na acidez, bem como na produção de CO₂, conduzindo a um estado de hiperventilação e incapacidade de manter o exercício físico por períodos prolongados (Wasserman *et al.*, 1973). Nossos achados demonstraram este comportamento de lactato durante o TLM, no qual, a concentração de lactato pós teste aumentou (não-significativamente) nos grupos supra limiar (G110 e G120), como foi demonstrado na Figura 2. Este resultado sugere que, pela intensidade de exercício, houve uma maior participação do metabolismo anaeróbio na realização do exercício, reproduzindo o que é bem descrito sobre a intensidade de exercício na literatura (Gaesser & Poole, 1996; Manchado *et al.*, 2006a), bem como a sensibilidade do Teste de Lactato Mínimo para predizer máxima fase estável de lactato sanguíneo (De Araújo *et al.*, 2007; Voltarelli *et al.*, 2002; Macintosh *et al.*, 2002). No entanto, vale ressaltar que os valores encontrados pós a realização do exercício são baixos de uma forma absoluta, mas são maiores do que os encontrados nos níveis basais. Intrigantemente, os valores pós exercício são menores do que os valores

encontrados pós o teste de lactato mínimo ($4,2 \pm 1,3$ mmol/L). E, apesar de ser pouco provável, mais estudos são necessários para avaliar se o TLM pode subestimar o Limiar Anaeróbio em ratos, como foi demonstrado por Rodrigues et al., (*in press*), no modelo experimental de camundongos.

A literatura, apesar de em muitos casos apresentar-se controversa, sugere que exercícios físicos mais prolongados aumentam o catabolismo proteico como efeito agudo. Como consequência, os esforços dessa natureza podem elevar a concentração plasmática de amônia, que no fígado será convertida em ureia pelo ciclo da ureia (Wagenmakers, 1998; Graham *et al.*, 1997; Santos *et al.*, 2006). Entretanto, em nosso estudo não foram encontradas diferenças significantes nos valores de proteínas totais e ureia. Por outro lado, Moura et al. (2011) investigaram os efeitos de uma sessão aguda de natação em ratos sobre a homeostasia de glicose em ratos com diabetes tipo 1. Os resultados de Moura e seus colegas sugerem o aumento nos níveis de HDL colesterol e nos conteúdos de glicogênio hepático, entretanto, sem modificações na glicemia em resposta a uma única sessão de exercício. Tal resultado corrobora com os achados em nosso presente estudo, visto que também não houve alterações significativas nos níveis de glicemia entre os grupos para uma única sessão de exercício, apesar da glicemia do G120 ser estatisticamente superior ao G80 ($228,4 \pm 42,1$ ml/dL e $168,7 \pm 33,0$ ml/dL, respectivamente).

A lesão das membranas celulares podem levar à liberação dos conteúdos celulares para o plasma (Kalfati *et al.*, 2010). Tal situação pode ser identificada através da liberação de enzimas intracelulares, como creatina-quinase (CK) e lactato desidrogenase (LDH), visto que estas enzimas não possuem funções fisiológicas conhecidas no plasma. Logo, a quantificação das mesmas podem nos fornecer informações sobre o tecido danificado (Armstrong *et al.*, 1983; Skenderi *et al.*, 2006; Ramos *et al.*, 2013). Entretanto, os resultados de nosso estudo não foram ao encontro de outros estudos presentes na literatura em relação ao dano muscular tecidual, ao menos considerando o método aqui utilizado e o protocolo de exercício adotado nesse estudo. Contudo, Ramos et al. (Ramos *et al.*, 2013), investigaram estudos prévios mostrando que o dano muscular está relacionado com o número de contrações excêntricas (Armstrong *et al.*, 1983; Noakes, 1987), e que certos ergômetros (ex: natação), possuem componentes excêntricos muito

menores que outros (Noakes, 1987; Komulainen *et al.*, 1995). Não obstante, nós encontramos diferenças estatisticamente significantes nos valores supra limiar (G110 e G120) em relação ao grupo controle. Dessa forma, o ergômetro utilizado no protocolo, que pode ter levado à menores danos mecânicos, e o tempo de extração do sangue para análise ser imediatamente após a realização do esforço, podem explicar os valores encontrados.

Na década de 70, muitos cientistas estudaram os efeitos de diferentes tipos de exercício físico sobre o conteúdo de glicogênio muscular e hepático (Baldwin *et al.*, 1975; Armstrong *et al.*, 1983; Beck *et al.*, 2014). Armstrong *et al.* (1986), sugeriram que, em menores intensidades de esforço há uma preferência primária em fibras oxidativas para atividades contráteis e, que o principal uso de fibras glicolíticas ocorre somente em maiores intensidades ou quando os estoques de glicogênio das fibras aeróbias são depletados durante o exercício prolongado de menor intensidade. Baldwin *et al.* (1975), relataram que os estoques de glicogênio diminuem mais lentamente em ratos treinados. Em nossos achados, não houve grandes alterações nos estoques de glicogênio muscular, porém, houve grande depleção dos estoques de glicogênio hepático nos grupos G110 e G120 em relação ao GC. Os dados sugerem que para os exercícios de maior intensidade e menor duração, o fígado é a fonte primária de quebra de glicogênio, provavelmente para evitar um estado de hipoglicemia no organismo gerada pelo consumo de glicose pelos músculos em atividade. No fígado, ocorreram reduções significativas nos grupos G110 e G120, em relação ao GC. Tal resultado nos leva a crer que, devido a maior intensidade de exercício, o fígado proveu a degradação de glicogênio, bem como a gliconeogênese através da formação de lactato em resposta ao esforço, para que o organismo conseguisse tamponar a acidose produzida, e gerar energia através desse mesmo substrato. Em adição, nas intensidades supra limiar, o fígado foi a fonte primária para evitar um estado hipoglicêmico, o que poderia levar a maiores complicações decorrentes do esforço.

Por fim, a determinação da intensidade de exercício em animais é de extrema importância, pois nos permite transferir tais conhecimentos para estudos com seres humanos (Manchado *et al.*, 2006a). Em nosso estudo, os níveis lactacidêmicos, dano muscular, glicogênio hepático e ácido úrico foram significativamente alterados, especialmente nos grupos exercitados de forma supra limiar. No

entanto, apesar dos parâmetros metabólicos não apresentarem diferenças significativas dentre os grupos, certificamos que a realização de uma sessão aguda de exercício foi capaz de promover alterações metabólicas *per se*. Portanto, tal fato sugere que, apesar da realização do exercício em isocarga de esforço, o metabolismo trabalha de maneiras diferentes.

Dessa forma, esses achados nos permitem sugerir que diferentes manipulações dos fatores que influenciam a carga de esforço devem ser mais profundamente investigadas de maneira equivalente, bem como os mesmos parâmetros analisados, mas de maneira crônica (treinamento), visto que a sucessiva aplicação dessas cargas pode, cronicamente, alterar o comportamento inclusive das variáveis metabólicas que se demonstraram inalteradas na presente pesquisa. Enriquecendo assim, o conhecimento acerca do controle e prescrição das cargas de esforço do exercício físico.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDERSEN, M. L. et al. Different stress modalities result in distinct steroid hormone responses by male rats. **Brazilian journal of medical and biological research**, v. 37, n. 6, p. 791, 2004.
- ARMSTRONG, R. B.; OGILVIE, R. W.; SCHWANE, J. A. Eccentric exercise-induced injury to rat skeletal muscle. **Journal of Applied Physiology**, v. 54, n. 1, p. 80-93, 1983.
- ARMSTRONG, R. B. Muscle damage and endurance events. **Sports medicine (Auckland, NZ)**, v. 3, n. 5, p. 370, 1986.
- BACON, L.; KERN, M. Evaluating a test protocol for predicting maximum lactate steady state. **The Journal of sports medicine and physical fitness**, v. 39, n. 4, p. 300, 1999.
- BALDWIN, K. M. et al. Depletion of muscle and liver glycogen during exercise. Protective effect of training. **Pflugers Archive: European journal of physiology**, v. 354, n. 3, p. 203, 1975.

BALDWIN, K. M.; HOOKER, A. M.; HERRICK, R. E. Lactate oxidative capacity in different types of muscle. **Biochemical and biophysical research communications**, v. 83, n. 1, p. 151, 1978

BANISTER, E. W. Modeling elite athletic performance. **Physiological testing of elite athletes**, p. 403-424, 1991.

BARJA, G. Q. Brown fat thermogenesis and exercise: two examples of physiological oxidative stress?. **Free radical biology & medicine**, v. 13, n. 4, p. 325, 1992.

BAUMSTARK, M. W.; FREY, I.; BERG, A. Acute and delayed effects of prolonged exercise on serum lipoproteins. II. Concentration and composition of low-density lipoprotein subfractions and very low-density lipoproteins. **European journal of applied physiology and occupational physiology**, v. 66, n. 6, p. 526, 1993.

BECK, W.; GOBATTO, C.. Effects of maximum intensity aerobic swimming exercise until exhaustion at different times of day on the hematological parameters in rats. **Acta Physiologica Hungarica**, v. 100, n. 4, p. 427-434, 2013.

BECK, W. R. et al. Melatonin Has An Ergogenic Effect But Does Not Prevent Inflammation and Damage In Exhaustive Exercise. **Scientific reports**, v. 5, p. 18065-18065, 2014

BECK, W. R. et al. Time of day effects on aerobic capacity, muscle glycogen content and performance assessment in swimming rats. **Science & Sports**, v. 29, n. 6, p. 319-323, 2014.

BELMONTE, M.A.; AOKI, M.S. Triacilglicerol intramuscular: um importante substrato energético para o exercício de endurance. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 11, n. 2, 2005.

BENEKE, Ralph. Methodological aspects of maximal lactate steady state - implications for performance testing. **European journal of applied physiology**, v. 89, n. 1, p. 95-99, 2003.

BENEKE, R.; VON DUVILLARD, S. P. Determination of maximal lactate steady state response in selected sports events. **Medicine and science in sports and exercise**, v. 28, n. 2, p. 241, 1996.

BERGER, N. J. et al. Influence of acute plasma volume expansion on VO₂ kinetics, VO₂ peak, and performance during high-intensity cycle exercise. **Journal of applied physiology (Bethesda, Md.: 1985)**, v. 101, n. 3, p. 707, 2006.

BERGSTRÖM, J.; HULTMAN, E. Muscle glycogen synthesis after exercise: an enhancing factor localized to the muscle cells in man. **Nature**, v. 210, n. 5033, p. 309, 1966

BERGSTRÖM, J.; HULTMAN, E. A Study of the Glycogen Metabolism during Exercise in Man. **Scandinavian Journal of Clinical & Laboratory Investigation**, v. 19, n. 3, p. 218-228, 1967.

BROOKS, G. A. Cell-cell and intracellular lactate shuttles. **The Journal of physiology**, v. 587, n. Pt 23, p. 5591, 2009

BERGSTRÖM, J. et al. Diet, muscle glycogen and physical performance. **Acta Physiologica Scandinavica**, v. 71, n. 2, p. 140, 1967.

BOOTH, F. W.; LAYE, M. J.; SPANGENBURG, E. E. Gold standards for scientists who are conducting animal-based exercise studies. **Journal of applied physiology (Bethesda, Md.: 1985)**, v. 108, n. 1, p. 219, 2010.

BOTEZELLI, José Diego et al. Fructose-rich diet leads to reduced aerobic capacity and to liver injury in rats. **Lipids in Health and Disease**, v. 11, p. 78, 2012.

BOYCOTT, A. E.; HALDANE, J. S. The effects of low atmospheric pressures on respiration. **The Journal of physiology**, v. 37, n. 5-6, p. 355, 1908.

BRUM, Patrícia Chakur et al. Adaptações agudas e crônicas do exercício físico no sistema cardiovascular. **Rev Paul Educ Fís**, v. 18, p. 21-31, 2004.

BURGOMASTER, K. A. et al. Six sessions of sprint interval training increases muscle oxidative potential and cycle endurance capacity in humans. **Journal of applied physiology (Bethesda, Md.: 1985)**, v. 98, n. 6, p. 1985, 2005.

CARVALHO, J. F.; MASUDA, M. O.; POMPEU, F. A. Method for diagnosis and control of aerobic training in rats based on lactate threshold. **Comparative biochemistry and physiology. Part A, Molecular & integrative physiology**, v. 140, n. 4, p. 409, 2005.

- CHEN, T. C.; HSIEH, S. S. Effects of a 7-day eccentric training period on muscle damage and inflammation. **Medicine and science in sports and exercise**, v. 33, n. 10, p. 1732, 2001.
- CLARKSON, P. M.; TREMBLAY, I. Exercise-induced muscle damage, repair, and adaptation in humans. **Journal of applied physiology (Bethesda, Md.: 1985)**, v. 65, n. 1, p. 1, 1988.
- CONTARTEZE, R. V. L. et al. Biomarcadores de estresse em ratos exercitados por natação em intensidades igual e superior à máxima fase estável de lactato. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, p. 169-174, 2007.
- COYLE, E. F. Physiological regulation of marathon performance. **Sports medicine (Auckland, NZ)**, v. 37, n. 4-5, p. 306, 2007.
- DE ARAUJO, G. G. et al. Interval versus continuous training with identical workload: physiological and aerobic capacity adaptations. **Physiological Research / Academia Scientiarum Bohemoslovaca**, v. 64, n. 2, p. 209, 2015.
- DE ARAUJO, G. G. et al. Physiological adaptations during endurance training below anaerobic threshold in rats. **European journal of applied physiology**, v. 113, n. 7, p. 1859-1870, 2013.
- DE ARAUJO, G. G. et al. Physiological responses during linear periodized training in rats. **European journal of applied physiology**, v. 112, n. 3, p. 839-852, 2012.
- DE ARAUJO, G. G. et al. Protocols for hyperlactatemia induction in the lactate minimum test adapted to swimming rats. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology**, v. 148, n. 4, p. 888-892, 2007.
- DE ARAUJO, G. G. de et al. Standardization of an experimental periodized training protocol in swimming rats. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 16, n. 1, p. 51-56, 2010.
- DENVIR, M. A. et al. Changes in skeletal and cardiac muscle enzymes during the Scottish Coast to Coast Triathlon. **Scottish medical journal**, v. 44, n. 2, p. 49, 1999
- DENADAI, B. S.; GOMIDE, E. B.; GRECO, C. C. The relationship between onset of blood lactate accumulation, critical velocity, and maximal lactate steady state in

soccer players. **Journal of strength and conditioning research/National Strength & Conditioning Association**, v. 19, n. 2, p. 364, 2005.

DOS SANTOS, A. C. A. et al. The effects induced by swimming training on rats submitted to normal and hypercaloric diets. **Motricidade**, v. 11, n. 2, p. 16-24, 2015.

DUBOIS, M. et al. Acolorimetric method for the determination of sugars. **Nature**, v. 168, n. 4265, p. 167, 1951.

DUDLEY, G. A.; ABRAHAM, W. M.; TERJUNG, R. L. Influence of exercise intensity and duration on biochemical adaptations in skeletal muscle. **Journal of applied physiology: respiratory, environmental and exercise physiology**, v. 53, n. 4, p. 844, 1982.

DUFFIELD, R.; EDGE, J.; BISHOP, D. Effects of high-intensity interval training on the VO₂ response during severe exercise. **Journal of science and medicine in sport/Sports Medicine Australia**, v. 9, n. 3, p. 249, 2006.

EBBELING, C. B.; CLARKSON, P. M. Exercise-induced muscle damage and adaptation. **Sports medicine (Auckland, NZ)**, v. 7, n. 4, p. 207, 1989.

ENGEL, L. W.; YOUNG, N. A. Human breast carcinoma cells in continuous culture: a review. **Cancer research**, v. 38, n. 11 Part 2, p. 4327-4339, 1978.

ESTEVE-LANAO, J. et al. Impact of training intensity distribution on performance in endurance athletes. **Journal of strength and conditioning research/National Strength & Conditioning Association**, v. 21, n. 3, p. 943, 2007.

FOSCHINI, D.; PRESTES, J.; CHARRO, M.A. Relationship between physical exercise, muscle damage and delayed-onset muscle soreness. **Brazilian Journal of Kinanthropometry and Human Performance**, v. 9, n. 1, p. 101-106, 2007.

FREY, I.; BAUMSTARK, M. W.; BERG, A. Acute and delayed effects of prolonged exercise on serum lipoproteins. I. Composition and distribution of high density lipoprotein subfractions. **European journal of applied physiology and occupational physiology**, v. 66, n. 6, p. 521, 1993.

GAESSER, Glenn A.; POOLE, David C. The slow component of oxygen uptake kinetics in humans. **Exercise and sport sciences reviews**, v. 24, n. 1, p. 35-70, 1996.

GEENEN, D.; BUTTRICK, P.; SCHEUER, J. Cardiovascular and hormonal responses to swimming and running in the rat. **Journal of applied physiology (Bethesda, Md.: 1985)**, v. 65, n. 1, p. 116, 1988.

GLADDEN, L. B. Lactate uptake by skeletal muscle. **Exercise and sport sciences reviews**, v. 17, p. 115, 1989.

GIBALA, M. J. et al. Brief intense interval exercise activates AMPK and p38 MAPK signaling and increases the expression of PGC-1 alpha in human skeletal muscle. **Journal of applied physiology (Bethesda, Md.: 1985)**, v. 106, n. 3, p. 929, 2009.

GOBATTO, C. A. et al. Maximal lactate steady state for aerobic evaluation of swimming mice. **Comparative Exercise Physiology**, v. 6, n. 3, p. 99-103, 2009.

GOBATTO, Claudio Alexandre et al. Maximal lactate steady state in rats submitted to swimming exercise. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology**, v. 130, n. 1, p. 21-27, 2001.

GORDON, P. M. et al. The acute effects of exercise intensity on HDL-C metabolism. **Medicine and science in sports and exercise**, v. 26, n. 6, p. 671, 1994.

GRAHAM, T. E. et al. Effect of endurance training on ammonia and amino acid metabolism in humans. **Medicine and science in sports and exercise**, v. 29, n. 5, p. 646, 1997.

HARNISH, C. R.; SWENSEN, T. C.; PATE, R. R. Methods for estimating the maximal lactate steady state in trained cyclists. **Medicine and science in sports and exercise**, v. 33, n. 6, p. 1052, 2001

HAWLEY, J. A.; STEPTO, N. K. Adaptations to training in endurance cyclists: implications for performance. **Sports medicine (Auckland, NZ)**, v. 31, n. 7, p. 511, 2001.

HAWLEY, J.; BURKE, L. Nutritional strategies to enhance fat oxidation during aerobic exercise. 2006.

HIRABARA, S. M. et al. Acute effect of fatty acids on metabolism and mitochondrial coupling in skeletal muscle. **Biochimica et biophysica acta**, v. 1757, n. 1, p. 57, 2006.

HURLEY, B. F. Effects of resistive training on lipoprotein-lipid profiles: a comparison to aerobic exercise training. **Medicine and science in sports and exercise**, v. 21, n. 6, p. 689, 1989.

IAIA, F. M. et al. Reduced volume but increased training intensity elevates muscle Na⁺-K⁺ pump alpha1-subunit and NHE1 expression as well as short-term work capacity in humans. **American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology**, v. 294, n. 3, p. R966, 2008.

INDER, W. J. et al. Prolonged exercise increases peripheral plasma ACTH, CRH, and AVP in male athletes. **Journal of applied physiology (Bethesda, Md.: 1985)**, v. 85, n. 3, p. 835, 1998.

ISSURIN, V. Block periodization versus traditional training theory: a review. **The Journal of sports medicine and physical fitness**, v. 48, n. 1, p. 65, 2008.

JENKINS, R. R. Free radical chemistry. Relationship to exercise. **Sports medicine (Auckland, NZ)**, v. 5, n. 3, p. 156, 1988.

JONES, A. M.; CARTER, H. The effect of endurance training on parameters of aerobic fitness. **Sports medicine**, v. 29, n. 6, p. 373-386, 2000.

JONES, A. M.; DOUST, J. H. The validity of the lactate minimum test for determination of the maximal lactate steady state. **Medicine and science in sports and exercise**, v. 30, n. 8, p. 1304, 1998.

JUNIOR, Marcelo Costa et al. Response of creatine kinase (CK) levels in diabetics Wistar rats after acute physical exercise. **JEP online**, v. 16, p. 99-111, 2013.

KALAFATI, M. et al. Ergogenic and antioxidant effects of spirulina supplementation in humans. **Med Sci Sports Exerc**, v. 42, n. 1, p. 142-51, 2010.

KEAST, D.; CAMERON, K.; MORTON, A. R. Exercise and the immune response. **Sports medicine (Auckland, NZ)**, v. 5, n. 4, p. 248, 1988.

KLAPCIŃSKA, B. et al. The effects of sprint (300 m) running on plasma lactate, uric acid, creatine kinase and lactate dehydrogenase in competitive hurdlers and untrained men. **The Journal of sports medicine and physical fitness**, v. 41, n. 3, p. 306, 2001.

KING, A. C. et al. Long-term effects of varying intensities and formats of physical activity on participation rates, fitness, and lipoproteins in men and women aged 50 to 65 years. **Circulation**, v. 91, n. 10, p. 2596, 1995.

KOMULAINEN, J.; TAKALA, T. E.; VIHKO, V. Does increased serum creatine kinase activity reflect exercise-induced muscle damage in rats?. **International journal of sports medicine**, v. 16, n. 3, p. 150, 1995.

KRAEMER, WILLIAM J. et al. Changes in muscle hypertrophy in women with periodized resistance training. **Medicine and science in sports and exercise**, v. 36, n. 4, p. 697-708, 2004.

LAMBERTUCCI, R. H. et al. Effects of aerobic exercise training on antioxidant enzyme activities and mRNA levels in soleus muscle from young and aged rats. **Mechanisms of ageing and development**, v. 128, n. 3, p. 267, 2007. MUJKA, I. et al. Physiological responses to a 6-d taper in middle-distance runners: influence of training intensity and volume. **Medicine and science in sports and exercise**, v. 32, n. 2, p. 511, 2000.

LAZARIM, F. L. et al. The upper values of plasma creatine kinase of professional soccer players during the Brazilian National Championship. **Journal of science and medicine in sport**, v. 12, n. 1, p. 85, 2009.

LAUGHLIN, M. H. et al. Skeletal muscle oxidative capacity, antioxidant enzymes, and exercise training. **Journal of applied physiology (Bethesda, Md.: 1985)**, v. 68, n. 6, p. 2337, 1990.

LAURSEN, P. B. et al. Manipulating training intensity and volume in already well-trained rats: effect on skeletal muscle oxidative and glycolytic enzymes and buffering capacity. **Applied physiology, nutrition, and metabolism**, v. 32, n. 3, p. 434, 2007.

LAURSEN, P. B. Training for intense exercise performance: high-intensity or high-volume training?. **Scandinavian Journal of Medicine Science Sports**, v. 20, n. 2, p. 1-10, 2010.

LIMA, A. A. et al. Two water environment adaptation models enhance motor behavior and improve the success of the lactate minimum test in swimming rats. **Motriz: Revista de Educação Física (Online)**, 2016.

LIU, C. et al. Lactate inhibits lipolysis in fat cells through activation of an orphan G-protein-coupled receptor, GPR81. **The Journal of biological chemistry**, v. 284, n. 5, p. 2811, 2009

MACINTOSH, B. R.; ESAU, S.; SVEDAHL, K.. The lactate minimum test for cycling: estimation of the maximal lactate steady state. **Canadian Journal of Applied Physiology**, v. 27, n. 3, p. 232-249, 2002.

MANCHADO, F. B. et al. Non-exhaustive test for aerobic capacity determination in swimming rats. **Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism**, v. 31, n. 6, p. 731-736, 2006

MANCHADO, F. B. et al. The maximal lactate steady state is ergometer-dependent in experimental model using rats. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 12, n. 5, p. 259-262, 2006

MARTIN 3RD, W. H. Effects of acute and chronic exercise on fat metabolism. **Exercise and sport sciences reviews**, v. 24, p. 203, 1996.

MARLISS, E. B.; VRANIC, M. Intense exercise has unique effects on both insulin release and its roles in glucoregulation: implications for diabetes. **Diabetes**, v. 51, p. S271, 2002.

MATVEEV, L. P.; ZDORNYJ, A. P. **Fundamentals of sports training**. Progress, 1981.

MCDONALD, M. W. et al. The glucoregulatory response to high-intensity aerobic exercise following training in rats with insulin-treated type 1 diabetes mellitus. **Applied physiology, nutrition, and metabolism**. v. 41, n. 6, p. 631, 2016.

MOLDOVEANU, A. I.; SHEPHARD, R. J.; SHEK, P. N. The cytokine response to physical activity and training. **Sports medicine (Auckland, NZ)**, v. 31, n. 2, p. 115, 2001.

MOURA, L. et al. Glucose homeostasis in type 1 diabetic rats after acute physical activity. **Journal of Exercise Physiology Online**, p. 8-19, 2011.

MUJIKKA, I. The influence of training characteristics and tapering on the adaptation in highly trained individuals: a review. **International journal of sports medicine**, v. 19, n. 7, p. 439, 1998.

MUJIK, I. et al. Modeled responses to training and taper in competitive swimmers. **Medicine and science in sports and exercise**, v. 28, n. 2, p. 251, 1996.

NIEMAN, D. C. et al. The effects of moderate exercise training on natural killer cells and acute upper respiratory tract infections. **International journal of sports medicine**, v. 11, n. 6, p. 467, 1990.

NOAKES, T. D. Effect of exercise on serum enzyme activities in humans. **Sports Medicine**, v. 4, n. 4, p. 245-267, 1987.

NUVIALA, R. J. et al. Serum enzymes activities at rest and after a marathon race. **The Journal of sports medicine and physical fitness**, v. 32, n. 2, p. 180, 1992.

OHKUWA, T.; SAITO, M.; MIYAMURA, M. Plasma LDH and CK activities after 400 m sprinting by well-trained sprint runners. **European journal of applied physiology and occupational physiology**, v. 52, n. 3, p. 296, 1984.

OVEREND, T. J. et al. Physiological responses of young and elderly men to prolonged exercise at critical power. **European journal of applied physiology and occupational physiology**, v. 64, n. 2, p. 187, 1992.

PAGLIASSOTTI, M. J.; DONOVAN, C. M. Glycogenesis from lactate in rabbit skeletal muscle fiber types. **The American journal of physiology**, v. 258, n. 4 Pt 2, p. R903, 1990.

PAN, D. A. et al. Skeletal muscle triglyceride levels are inversely related to insulin action. **Diabetes**, v. 46, n. 6, p. 983, 1997.

PANDAREESH, M. D.; ANAND, T. Ergogenic effect of dietary L-carnitine and fat supplementation against exercise induced physical fatigue in Wistar rats. **Journal of physiology and biochemistry**, v. 69, n. 4, p. 799-809, 2013.

PAPOTI, M. et al. Máxima fase estável de lactato durante a natação em ratos recuperados de desnutrição proteica. **Motriz**, v. 9, n. 2, p. 97-103, 2003.

PARRA, J. et al. The distribution of rest periods affects performance and adaptations of energy metabolism induced by high-intensity training in human muscle. **Acta Physiologica Scandinavica**, v. 169, n. 2, p. 157, 2000.

PEREIRA, B. et al. Superoxide dismutase, catalase, and glutathione peroxidase activities in muscle and lymphoid organs of sedentary and exercise-trained rats. **Physiology & behavior**, v. 56, n. 5, p. 1095, 1994.

PETERSEN, K. F.; PRICE, T. B.; BERGERON, R. Regulation of net hepatic glycogenolysis and gluconeogenesis during exercise: impact of type 1 diabetes. **The Journal of clinical endocrinology and metabolism**, v. 89, n. 9, p. 4656, 2004.

PIERCE, G. N. et al. Effects of chronic swimming training on cardiac sarcolemmal function and composition. **Journal of applied physiology (Bethesda, Md.: 1985)**, v. 66, n. 4, p. 1715, 1989.

PINHO, R. A. et al. Imbalance in SOD/CAT activities in rat skeletal muscles submitted to treadmill training exercise. **Cell biology international**, v. 30, n. 10, p. 848, 2006

POWERS, S. K. et al. Influence of exercise and fiber type on antioxidant enzyme activity in rat skeletal muscle. **The American journal of physiology**, v. 266, n. 2 Pt 2, p. R375, 1994.

PRADO, E. D.S.; DANTAS, E. H. M. Efeitos dos exercícios físicos aeróbio e de força nas lipoproteínas HDL, LDL e lipoproteína (a). **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 79, n. 4, p. 429-433, 2002.

PYNE, D. B.; MUJIK, I.; REILLY, T. Peaking for optimal performance: Research limitations and future directions. **Journal of sports sciences**, v. 27, n. 3, p. 195, 2009

RANDLE, P. J. et al. The glucose fatty-acid cycle. Its role in insulin sensitivity and the metabolic disturbances of diabetes mellitus. **Lancet (London, England)**, v. 1, n. 7285, p. 785, 1963.

RAMOS, D. et al. Biomarkers of oxidative stress and tissue damage released by muscle and liver after a single bout of swimming exercise. **Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism**, v. 38, n. 5, p. 507-511, 2013

REN, J. M. et al. Exercise induces rapid increases in GLUT4 expression, glucose transport capacity, and insulin-stimulated glycogen storage in muscle. **The Journal of biological chemistry**, v. 269, n. 20, p. 14396, 1994.

RICHTER, E. A. et al. Skeletal muscle glucose uptake during dynamic exercise in humans: role of muscle mass. **The American journal of physiology**, v. 254, n. 5 Pt 1, p. E555, 1988.

RIDDELL, M. C. The Impact of Type 1 Diabetes on the Physiological Responses to Exercise. **Type 1 Diabetes**, p. 29.

RODRIGUES, N. A. et al. Lactate Minimum Underestimates the Maximal Lactate Steady State in Swimming Mice. **Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism**, n. ja, 2016.

RUPP, H.; WAHL, R. Influence of thyroid hormones and catecholamines on myosin of swim-exercised rats. **Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)**, v. 68, n. 3, p. 973, 1990.

SANTOS, R. V. T.; CAPERUTO, E. C.; ROSA, L. F. B. P. Efeitos do aumento na sobrecarga de treinamento sobre parâmetros bioquímicos e hormonais em ratos. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 12, n. 3, p. 145-9, 2006

SCANLAN, A. T. et al. Cumulative Training Dose Alters the Interrelationships Between Common Training Load Models During Basketball Activity. **International journal of sports physiology and performance**, 2016.

SELMAN, C. et al. Antioxidant enzyme activities, lipid peroxidation, and DNA oxidative damage: the effects of short-term voluntary wheel running. **Archives of biochemistry and biophysics**, v. 401, n. 2, p. 255, 2002.

SILVEIRA, Leonardo R. et al. Regulação do metabolismo de glicose e ácido graxo no músculo esquelético durante exercício físico. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 55, n. 5, p. 303-313, 2011.

SJÖDIN, B.; HELLSTEN, Westing Y.; APPLE, F. S. Biochemical mechanisms for oxygen free radical formation during exercise. **Sports medicine (Auckland, NZ)**, v. 10, n. 4, p. 236, 1990.

SKENDERI, K. P. et al. Changes in free radical generation and antioxidant capacity during ultramarathon foot race. **European journal of clinical investigation**, v. 38, n. 3, p. 159, 2008.

SKENDERI, K. P. et al. Exertional rhabdomyolysis during a 246-km continuous running race. **Medicine and science in sports and exercise**, v. 38, n. 6, p. 1054, 2006.

SUNAMI, Y. et al. Effects of low-intensity aerobic training on the high-density lipoprotein cholesterol concentration in healthy elderly subjects. **Metabolism: clinical and experimental**, v. 48, n. 8, p. 984, 1999.

SUSSAI, D. A. et al. Low-level laser therapy attenuates creatine kinase levels and apoptosis during forced swimming in rats. **Lasers in medical science**, v. 25, n. 1, p. 115-120, 2010.

SZABÓ, A. et al. Metabolic changes induced by regular submaximal aerobic exercise in meat-type rabbits. **Acta veterinaria Hungarica**, v. 51, n. 4, p. 503, 2003.

TAN, D. X. et al. The pineal hormone melatonin inhibits DNA-adduct formation induced by the chemical carcinogen safrole in vivo. **Cancer letters**, v. 70, n. 1-2, p. 65, 1993.

TEGTBUR, U. W. E.; BUSSE, MARTIN W.; BRAUMANN, KLAUS M. Estimation of an individual equilibrium between lactate production and catabolism during exercise. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 25, n. 5, p. 620-627, 1993.

THOMPSON, PAUL D. et al. The acute versus the chronic response to exercise. **Medicine and science in sports and exercise**, v. 33, n. 6 Suppl, p. S438-45; discussion S452-3, 2001.

VOLTARELLI, F. A.; GOBETTO, C. A.; DE MELLO, M. A. Determination of anaerobic threshold in rats using the lactate minimum test. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research** v. 35, n. 11, p. 1389, 2002

WAGENMAKERS, A. J. Muscle amino acid metabolism at rest and during exercise: role in human physiology and metabolism. **Exercise and Sport Sciences Reviews**, v. 26, p. 287, 1998.

WASSERMAN, K. Determinants and detection of anaerobic threshold and consequences of exercise above it. **Circulation**, v. 76, n. 6 Pt 2, p. VI29, 1987.

WASSERMAN, K. et al. Anaerobic threshold and respiratory gas exchange during exercise. **Journal of Applied Physiology**, v. 35, n. 2, p. 236-243, 1973.

WERLE, E. O.; STROBEL, G.; WEICKER, H. Decrease in rat cardiac beta 1-and beta 2-adrenoceptors by training and endurance exercise. **Life Sciences**, v. 46, n. 1, p. 9, 1990.

WILKE, J. et al. Sport-specific functional movement can simulate aspects of neuromuscular fatigue occurring in team sports. **Sports biomechanics/ International Society of Biomechanics in Sports**, v. 15, n. 2, p. 151, 2016.

WU, J. L. et al. Effects of L-malate on physical stamina and activities of enzymes related to the malate-aspartate shuttle in liver of mice. **Physiological research/ Academia Scientiarum Bohemoslovaca**, v. 56, n. 2, p. 213-220, 2006.

Certificado

XXIII Congresso de Iniciação Científica da Unicamp



Certificamos que **ANDRÉ VICTOR CORDEIRO** (RA: 145310) participou do **XXIII Congresso de Iniciação Científica da UNICAMP**, promovido pelas Pró-Reitorias de Pesquisa e de Graduação no período de 17 a 19 de novembro de 2015, no Ginásio Multidisciplinar da UNICAMP, na qualidade de Autor/Expositor do trabalho "Effect of isoload acute exercise with different volume and intensity manipulations over muscle and hepatic glycogen stores in swimming rats", sob orientação do(a)

- Prof(a). Dr(a). FULVIA DE BARROS MANCHADO GOBATTO (FCA, UNICAMP).

Cidade Universitária "Zeferino Vaz", novembro de 2015.

Prof. Dr. Glaucia Maria Pastore
Pró-Reitora de Pesquisa | Unicamp

Prof. Dr. Luís Alberto Magna
Pró-Reitor de Graduação | Unicamp



EFFECT OF ISOLOAD ACUTE EXERCISE WITH DIFFERENTS VOLUME AND INTENSITY MANIPULATIONS OVER MUSCLE AND HEPATIC GLYCOGEN STORES IN SWIMMING RATS

André V. Cordeiro, Lucas D. M. Forte, Fúlvia B. Manchado-Gobatto
Laboratory of Physiology Applied to Sport
andre.cordeiro@hotmail.com



SCHOOL OF APPLIED SCIENCES – FCA / UNICAMP

Key words: Anaerobic threshold - exercise intensity - glycogen depletion

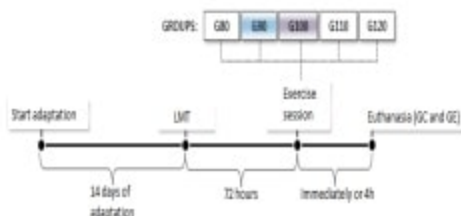
Introduction

It is well known that exercise performed at different intensities require different metabolic demand. However, there is a lack in literature regarding exercise performed at aerobic and anaerobic predominance but at the same total workload (isoload efforts), and its effects over metabolism.

Thus, the present study aimed to investigate the effect of an acute isoload exercise bout performed on intensities below, at and above the anaerobic threshold (AnT) over the muscle and hepatic glycogen stores.

Methods

The rats underwent a period of adaptation to the water of 14 days, followed by the Lactate Minimum Test (LMT) (DE ARAÚJO et al., 2007). After, the rats performed an acute isoload exercise under specific intensities and controlled efforts duration to obtain the same workload between the groups. The data is presented and related to average $\pm$ standard deviation.



Results and Discussion

Here we demonstrated for the first time that acute isoload exercise performed near the aerobic-anaerobic transition zone in fact promotes different requirement of energy demand, reflected in glycogen depletion, one of the most important substrate reserve (BECK et al., 2014). As expected, glycogen depletion was more evidenced during efforts of anaerobic predominance as well as in glycolytic predominant tissue. Nevertheless, we demonstrated that glycogen depletion is a very sensitive metabolic parameter after exercise, since it was not fully recovered after 4h acute effort (mainly in liver).

Table 1. Results of muscle and liver glycogen content (mg.100mg⁻¹) after acute exercise at different time of samples collection (2h and 4h after exercise).

	Gastro 4h	Glioxis 4h	Liver 4h	Gastro 0h	Glioxis 0h	Liver 0h
GC	0.47 $\pm$ 0.24	0.53 $\pm$ 0.2	1.66 $\pm$ 0.82	0.32 $\pm$ 0.25	0.25 $\pm$ 0.21	2.03 $\pm$ 0.75
G00	0.32 $\pm$ 0.06	0.35 $\pm$ 0.16*	0.63 $\pm$ 0.32*	0.31 $\pm$ 0.19	0.19 $\pm$ 0.06	1.59 $\pm$ 0.58
G05	0.42 $\pm$ 0.22	0.46 $\pm$ 0.19*	1.47 $\pm$ 1.14	0.33 $\pm$ 0.2	0.18 $\pm$ 0.08	1.24 $\pm$ 0.62
G10	0.36 $\pm$ 0.1	0.36 $\pm$ 0.06*	1.27 $\pm$ 0.52	0.28 $\pm$ 0.18	0.15 $\pm$ 0.02	1.41 $\pm$ 0.98
G15	0.34 $\pm$ 0.08	0.34 $\pm$ 0.07*	0.78 $\pm$ 0.2*	0.25 $\pm$ 0.15	0.19 $\pm$ 0.1	0.77 $\pm$ 0.5*
G20	0.31 $\pm$ 0.05	0.35 $\pm$ 0.06*	0.83 $\pm$ 0.29*	0.28 $\pm$ 0.19	0.37 $\pm$ 0.3	0.98 $\pm$ 0.83*

* p < 0.05 in comparison to control group (GC).

Conclusion

Our results suggests that despite performed on isoload, high intensities are more dependent of glucose metabolism, and mainly when considered hepatic and white muscle tissues.

References

- DE ARAÚJO, G.G.; PAPOTI, M.; MANCHADO, F.B.; MELLO, M.A.R.; GOBATO, C.A. *Comp Biochem Physiol* v 148, n 4, 2007
- BECK, W.R.; RIBEIRO, L.F.P.; SCARIOT, P.P.M.; REIS, I.G.M.; GOBATO, C.A. *Science & Sports*, v 29, n 6, 2014.



CEUA/Unicamp

**Comissão de Ética no Uso de Animais
CEUA/Unicamp**

CERTIFICADO

Certificamos que o projeto "**EFEITO DE DIFERENTES MODELOS DE TREINAMENTO E CONDIÇÕES AMBIENTAIS SOBRE A EXPRESSÃO DA HIF-1, PGC-1 α , mtTFA, MCT1, MCT4 E SUAS RELAÇÕES COM PARÂMETROS DE PERFORMANCE EM RATOS NADADORES**" (protocolo nº **3156-1**), sob a responsabilidade de **Profa. Dra. Fúlvia de Barros Manchado-Gobatto / Lucas Dantas Maia Forte**, está de acordo com os **Princípios Éticos na Experimentação Animal** adotados pela **Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório (SBCAL)** e com a legislação vigente, **LEI Nº 11.794, DE 8 DE OUTUBRO DE 2008**, que estabelece procedimentos para o uso científico de animais, e o **DECRETO Nº 6.899, DE 15 DE JULHO DE 2009**.

O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual de Campinas - CEUA/UNICAMP - em **18 de setembro de 2013**.

Campinas, 18 de setembro de 2013.

Profa. Dra. Ana Maria A. Guaraldo
Presidente

Fátima Alonso
Secretária Executiva