

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
IB – UNESP – RIO CLARO.

**BIOMARCADORES DO ESTRESSE EM RATOS EXERCITADOS POR  
NATAÇÃO E CORRIDA EM ESTEIRA ROLANTE**

**RICARDO VINICIUS LEDESMA CONTARTEZE**

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências do Campus de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista (UNESP), como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências da Motricidade (Área de Biodinâmica da Motricidade Humana).

**RIO CLARO**

**Estado de São Paulo-Brasil  
Março/ 2006**

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
IB – UNESP – RIO CLARO

**BIOMARCADORES DO ESTRESSE EM RATOS EXERCITADOS POR  
NATAÇÃO E CORRIDA EM ESTEIRA ROLANTE**

**RICARDO VINICIUS LEDESMA CONTARTEZE**

**Orientadora: Profa. Dra. MARIA ALICE ROSTOM DE MELLO**

**Dissertação apresentada ao  
Instituto de Biociências do  
Campus de Rio Claro,  
Universidade Estadual  
Paulista (UNESP), como parte  
dos requisitos para obtenção  
do título de Mestre em  
Ciências da Motricidade (Área  
de Biodinâmica da Motricidade  
Humana).**

**RIO CLARO**

**Estado de São Paulo-Brasil  
Março / 2006**

# DEDICATÓRIA

*Aos meus pais, NÂNCI e APARECIDO pôr estarem junto a mim em todas as etapas da minha vida.*

## *AGRADECIMENTOS*

Gostaria de agradecer todos os funcionários da UNESP de Rio Claro (limpeza, portaria, biblioteca, etc) por facilitarem minha rotina acadêmica e pessoal, vocês realmente fazem a diferença.

A todas as meninas do xerox, vocês me salvaram diversas vezes.

Agradeço as instalações da UNESP que possibilitaram meus estudos teórico e prático.

A rapaziada que bate uma bola no campão é bom ter um lazer de graça.

A todos os colegas da pós-graduação (mestrado e doutorado), vocês todos me proporcionaram um aprendizado pessoal e profissional relevante.

Ao grupo de estudo do professor Cláudio Gobatto (Papotí, Gustavão, Adelino, Vanessa, Polêmico e Bãrba), agradeço não só pelas pesquisas, mas também pelo companheirismo.

Ao grupo de estudo da professora Maria Alice (Fúlvia, Fabrício, Michel, Clécia, Camila e Carla Tevez), realmente tive a sorte de trabalhar com todos vocês, obrigado por todos os ensinamentos e pelo convívio.

A todos os professores da pós-graduação que mantém elevado o nível das pesquisas e disciplinas, tenho orgulho de levar comigo o mestrado na biodinâmica de Rio Claro.

A instituição de fomento CAPES, sem a sua contribuição tenho certeza que não concluiria o mestrado.

A professora Eliane Stevanato, que gentilmente aceitou participar dessa tese.

Aos técnicos de laboratório China, Beto e Clarice.

Ao professor Cláudio Gobatto, serei sempre grato pelas oportunidades que você me ofereceu e saiba que eu o tenho como referência na área acadêmica.

Ao professor José Roberto (Zé), que simplesmente ofereceu a oportunidade de ouro da minha vida, sou grato pelo privilégio de tê-lo conhecido.

Em especial a Professora Maria Alice Rostom de Mello, por mais que agradeça, a senhora nunca terá a verdadeira noção de sua importância em minha vida profissional. Gostaria de deixar registrado que tudo que precisei dentro do mestrado a senhora me ofereceu.

A família Gomes (Gustavo, Dona Diná e Seu Gomes), espero que minha convivência não tenha sido apenas passageira.

A Dona Norma, pelo convívio, pelas conversas, pela prestatividade, pelo respeito e carinho que a senhora demonstrou comigo. Espero ter sido digno de sua presença.

As três amigas de Bauru que continuaram comigo depois da faculdade (Camila Borges, Camila Fabiana e Gulnara), é bom saber que posso contar com vocês.

Aos meus amigos particulares (não citarei nomes para não ser injusto com alguém), sempre que precisei de um intervalo em meus estudos, foi em vocês que busquei minha tranquilidade.

Aos ratinhos, que cederam suas vidas em prol da ciência.

Ao meu afilhado Enzo, sempre estive com você em meus pensamentos.

Aos meus pais Nanci e Aparecido, tudo o que tenho na vida foram vocês que me ofereceram. Espero que um dia vocês se orgulhem de mim.

Agradeço ao Santo Expedito, para um sujeito que nem eu, só um santo das causas urgentes. Eu sei que você esteve comigo quando precisei.

Gostaria de agradecer muito ao Ricardo Vinicius Ledesma Contarteze, que cumpriu tudo aquilo que se propôs.

Agradeço a DEUS por sempre colocar pessoas espetaculares em minha vida.

## RESUMO

Muitos estudos enfocando metabolismo e exercício são desenvolvidos em modelos animais, especialmente os ratos. Entre os exercícios mais utilizados nas pesquisas com animais estão a esteira rolante e a natação. Contudo, ainda persistem dúvidas de qual seria o exercício mais apropriado para desencadear mais respostas ao exercício e menos respostas associadas a outros estresses. A atividade do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal constituído pelos hormônios ACTH e corticosterona são importantes biomarcadores de estresse. Portanto, o objetivo do presente estudo foi comparar biomarcadores do estresse durante exercício de intensidade conhecida em ratos exercitados por natação e por corrida em esteira rolante. Foram utilizados ratos Wistar adultos, adaptados aos exercícios, que tiveram a máxima fase estável de lactato (MFEL) determinada. Para isso, foram submetidos a 3 testes de 25 minutos de exercícios de natação (n=18) suportando cargas de 5,0 ; 5,5 e 6,0% do peso corporal (PC) ou 3 corridas com 25 minutos de duração (n=13) às velocidades de 15; 20 e 25 m/min. Houve coleta sanguínea da extremidade da cauda dos ratos a cada 5 minutos de exercício para dosagem de lactato. Após obtenção da MFEL, os animais foram divididos em subgrupos: (M) sacrificados imediatamente após sessão de 25 minutos de exercício (natação=09 ou esteira=07) na intensidade da MFEL ou (S) sacrificado após exercício exaustivo (natação=09 ou esteira=06) em intensidade 25% superior a MFEL. Para comparações, um grupo controle C (n=10) foi sacrificado em repouso. Utilizou-se Anova Two Way para identificar possíveis diferenças nos parâmetros de estresse ( $p < 0,05$ ). Foram obtidos os seguintes resultados MFEL: natação 5,5% do PC e corrida 20m/min às concentrações de lactato sanguíneo (mmol/L) de  $5,2 \pm 0,3$  na natação e  $3,8 \pm 0,1$  na corrida. Concentrações séricas de ACTH (pg/mL) foram significativamente maiores no grupo natação ( $963,3 \pm 420,4$ ) comparadas aos grupos corrida ( $348,7 \pm 60,9$ ) e controle ( $179,3 \pm 46,3$ ), enquanto que as concentrações séricas de corticosterona (ng/mL) nos grupos natação ( $2661,2 \pm 627,8$ ) e corrida ( $1802,7 \pm 700,4$ ) foram significativamente superiores ao grupo controle ( $467,11 \pm 262,12$ ). O grupo natação mostrou maiores concentrações de ambos os hormônios comparadas ao grupo corrida. Na intensidade 25% superior a MFEL: as concentrações séricas de ACTH (pg/mL) foram significativamente maiores no grupo natação ( $1284,4 \pm 361,3$ ) comparadas aos grupos corrida ( $372,3 \pm 145,8$ ) e controle ( $179,3 \pm 46,3$ ), enquanto que as concentrações séricas de corticosterona (ng/mL) nos grupos natação ( $3845,5 \pm 788,8$ ) e corrida ( $2027,9 \pm 724,9$ ) foram significativamente superiores ao grupo controle ( $467,1 \pm 262,1$ ). O grupo natação mostrou maiores concentrações de ambos os hormônios comparadas ao grupo corrida. Conclui-se que somente o exercício agudo de natação provocou respostas endócrino/metabólicas esperadas ao estresse: elevações das concentrações séricas de ACTH e corticosterona, sendo estas mais pronunciadas no exercício com maior intensidade (25% superior a MFEL).

## SUMÁRIO

---

	<b>Página</b>
1- INTRODUÇÃO.....	1
2- OBJETIVO.....	5
3- REVISÃO DA LITERATURA.....	6
3.1. Estresse.....	6
3.2. Respostas hormonais ao exercício.....	7
3.2.1. Glândula adrenal.....	8
3.2.1.1. Colesterol da glândula adrenal.....	9
3.2.1.2. Ácido ascórbico da glândula adrenal.....	9
3.2.1.3. Hormônio adrenocorticotrófico (ACTH).....	10
3.2.1.4. Glicocorticóides.....	11
3.2.1.5. Catecolaminas.....	12
4- MATERIAL E MÉTODOS.....	14
4.1. Animais.....	14
4.2. Delineamento e grupos experimentais.....	14
4.3. Avaliações.....	15
4.3.1. Avaliações prévias ao sacrifício dos animais.....	15
4.3.1.1. Seleção dos ratos corredores e adaptação ao exercício na esteira.....	16
4.3.1.2. Adaptação ao exercício de natação.....	16
4.3.1.3. Teste de máxima fase estável de lactato (MFEL) na esteira.....	16
4.3.1.4. Teste de máxima fase estável de lactato (MFEL) na natação.....	17
4.3.1.5. Análise do lactato sanguíneo.....	17
4.3.2. Avaliações posteriores ao sacrifício dos animais.....	17
4.3.2.1. Peso fresco total dos músculos (sóleo e gastrocnêmio).....	18
4.3.2.2. Peso fresco das glândulas adrenais.....	18
4.3.2.3. Glicose sérica.....	18

4.3.2.4. Ácidos Graxos Livres séricos.....	18
4.3.2.5. Glicogênio tecidual.....	19
4.3.2.6. Ácido ascórbico da glândula adrenal.....	19
4.3.2.7. Colesterol da glândula adrenal.....	20
4.3.2.8. Hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) sérico.....	20
4.3.2.9. Corticosterona sérica.....	20
4.3.3. Análise estatística.....	20
5- RESULTADOS.....	21
6- DISCUSSÃO.....	29
7- CONCLUSÕES .....	38
8- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	39
9- ABSTRACT.....	51

APÊNDICE1: Cópia do trabalho submetido- Contarteze et al. Stress biomarkers in rats submitted to swimming and treadmill running exercises. Comp. Biochem. Physiol. 2006.

APÊNDICE2: Cópia do trabalho submetido- Contarteze et al. Biomarcadores do estresse em ratos exercitados por natação em diferentes intensidades. Rev. Bras. Med. Esporte. 2006.



## LISTA DE TABELAS

---

### Página

TABELA 1. Concentração de lactato sanguíneo (mmol/L) durante os testes para identificação de máxima fase estável de lactato (MFEL) no exercício de corrida em esteira e natação.

.....24

TABELA 2. Glicose sérica (mg/dL), ácidos graxos livres séricos (mEq/L) e lactato sanguíneo (mmol/L) dos animais ao final do experimento em repouso (C) e após sessão de exercício em intensidade equivalente a máxima fase estável de lactato (M) e 25% superior a esta (S) nos ergômetros natação (N) e esteira (E).

.....25

TABELA 3. Ácido ascórbico ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ ) e colesterol da glândula adrenal ( $\text{mg}/100\text{mg}$ ) dos animais ao final do experimento em repouso (C) e após 25 minutos de exercício em intensidade equivalente a máxima fase estável de lactato (M) e 25% superior a esta (S) nos ergômetros natação (N) e esteira (E).

.....26

TABELA 4. Corticosterona sérica ( $\text{ng}/\text{mL}$ ) e hormônio adrenocorticotrófico sérico ( $\text{pg}/\text{mL}$ ) dos animais ao final do experimento em repouso (C) e após sessão de exercício em intensidade equivalente a máxima fase estável de lactato (M) e 25% superior a esta (S) nos ergômetros natação (N) e esteira (E).

.....27

TABELA 5. Glicogênio dos músculos gastrocnêmio e sóleo bem como do fígado ( $\text{mg}/100\text{mg}$ ) dos animais ao final do experimento em repouso (C) e após sessão de exercício em intensidade equivalente a máxima fase estável de lactato (M) e 25% superior a esta (S) nos ergômetros natação (N) e esteira (E).

.....28

## LISTA DE FIGURAS

---

### Página

FIGURA 1. Concentração de lactato sanguíneo (mmol/L) durante teste para identificação de máxima fase estável de lactato (MFEL) no exercício corrida em esteira (A) e natação (B).

.....24

FIGURA 2. Glicose sérica (A) (mg/dL), ácidos graxos livres séricos (B) (mEq/L) dos animais ao final do experimento em repouso e após sessão de exercício em intensidade equivalente a MFEL e 25% superior a esta nos ergômetros (natação e esteira).

.....25

FIGURA 3. Ácido ascórbico ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ ) e colesterol da glândula adrenal (mg/100mg) dos animais ao final do experimento em repouso e após 25 minutos de exercício em intensidade equivalente a máxima fase estável de lactato (MFEL) e 25% superior a esta nos ergômetros (natação e esteira).

.....26

FIGURA 4. Corticosterona sérica (ng/mL) e hormônio adrenocorticotrófico sérico (pg/mL) dos animais ao final do experimento em repouso e após sessão de exercício em intensidade equivalente a máxima fase estável de lactato (MFEL) e 25% superior a esta nos ergômetros (natação e esteira).

.....27

FIGURA 5. Glicogênio dos músculos gastrocnêmio e sóleo bem como do fígado (mg/100mg) dos animais ao final do experimento em repouso e após sessão de exercício em intensidade equivalente a máxima fase estável de lactato (MFEL) e 25% superior a esta nos ergômetros (natação e esteira).

.....28

## 1 - INTRODUÇÃO

Grande número de pesquisas envolvendo exercício físico tem sido conduzido em animais de laboratório, especialmente o rato. Contudo, pesquisas com animais apresentam limitação no que concerne à determinação da intensidade do esforço realizado pelo animal durante o exercício. Por essa razão, nosso grupo de pesquisa vem desenvolvendo estudos para estabelecer protocolos de identificação da intensidade do esforço realizado por ratos durante o exercício, empregando princípios de testes freqüentemente aplicados a seres humanos e que utilizam as concentrações sanguíneas de lactato como indicador.

Limiar anaeróbio (Lan), é definido como a carga de trabalho na qual o lactato sanguíneo começa a se acumular excessivamente durante exercícios progressivos. Em seres humanos, o Lan tem sido determinado submetendo o indivíduo a esforços com cargas progressivamente mais altas e concomitantemente avaliação da concentração de lactato sanguíneo. A determinação pode ser feita baseando-se no desvio da linha de base da concentração circulante de lactato ou na intensidade de trabalho correspondente a uma concentração fixa de lactato. O primeiro procedimento fundamenta-se no fato de que o aumento não linear na concentração de lactato sanguíneo em relação à intensidade do exercício indica a transição do metabolismo de aeróbio para anaeróbio, conforme definem Wasserman et al. (1967) e Kindermann et al. (1979). Já o segundo

método assume o princípio de que até uma determinada concentração de lactato sanguíneo (que para seres humanos equivale a 4,0 mmol/L) ocorre equilíbrio entre a produção muscular e a remoção desse substrato da circulação, conforme postularam Heck et al. (1985). Assim sendo, teoricamente o Lan indica a carga de trabalho equivalente à máxima fase estável de lactato (MFEL), isto é, a mais alta concentração sanguínea de lactato onde sua entrada é compensada pela remoção (HECK et al., 1985; BENEKE, 2003).

Em relação aos modelos animais (ratos), inicialmente nosso grupo descreveu um teste com cargas progressivas, na tentativa de verificar as respostas funcionais dos ratos na mobilização de substratos energéticos (GOBATTO et al., 1991). Mais tarde descreveu um protocolo para a determinação da MFEL na natação (cujo valor para o rato foi de 5,5 mmol/L), utilizando exercícios com cargas contínuas (GOBATTO et al., 2001). Posteriormente, utilizando o mesmo princípio de exercício com cargas contínuas, Manchado et al. (2005) encontraram a MFEL na esteira rolante na intensidade de 20 m/min com valor de lactato ( $3,9 \pm 0,3$  mmol/L). Recentemente, Voltarelli et al. (2002) determinou o Lan individual de ratos empregando o protocolo originalmente desenvolvido para seres humanos por Tegtbur et al. (1993). Nesse protocolo, os sujeitos realizam exercícios progressivamente mais intensos após a execução de uma sessão de exercício máximo. Os padrões, de laticemia dos ratos mostram-se semelhantes aos de seres humanos.

Estudos com ratos, preás, cães, coelhos, e outros mamíferos procuram mimetizar condições de estresse físico observadas em seres humanos, visando o melhor acompanhamento das alterações sistêmicas, celulares e moleculares decorrentes do exercício. Entretanto, os protocolos e exercício físico para animais devem simular

adequadamente as situações a que são expostos os seres humanos. Entre os exercícios mais usados em pesquisas com animais estão a esteira rolante e a natação. Os animais mais empregados, sem dúvida, são os ratos, que são pequenos, de fácil manipulação e apresentam boa resposta ao exercício (GOBATTO et al., 2001).

A esteira pode ser citada como o exercício mais utilizado nos experimentos com animais, considerando o número bastante superior de pesquisas que fazem uso desse recurso em relação a qualquer outro modelo (FARRELL et al., 1992; SHERMAN et al., 1992; BENNELL et al., 2002). Além disso, no uso de esteiras rolantes para ratos, a intensidade do exercício é facilmente determinada e pode ser acrescida pelo simples aumento da velocidade. Apesar disso, algumas desvantagens do uso de esteiras podem ser listadas, dentre elas; 1- elevado custo do equipamento, 2- difícil manutenção e controle da velocidade, 3- necessidade de seleção dos animais (corredores) e 4- presença de choque elétrico como fator de estresse (GOBATTO et al., 2001).

Outro exercício aplicado no treinamento de ratos é a natação. Um aspecto positivo deste método de treinamento está na habilidade dos ratos à natação. Estudos realizados utilizando esse modelo revelam a ocorrência de adaptações a treinamento físico semelhante às observadas em seres humanos (GOBATTO et al., 2001; VOLTARELLI et al., 2002). Apesar dessas vantagens, algumas críticas recaem sobre pesquisas realizadas com esse exercício, tais como; 1- temperatura da água, 2- tempo possível de submersão dos animais durante o exercício, 3- estresse causado pelo exercício (creditado por alguns pesquisadores como luta pela sobrevivência ao meio aquático do que meramente um esforço físico) e 4- dificuldade de precisão da sobrecarga de esforço (GOBATTO et al., 2001).

Com relação à intensidade do esforço, alguns parâmetros podem auxiliar na detecção das alterações do meio interno causadas pelo exercício, visando a manutenção da homeostase. Dentre elas, podemos citar as alterações nas concentrações hormonais, sendo que alterações bastante evidentes ocorrem nos hormônios indicadores do estresse, liberados pela glândula adrenal (MOSTL & PALME, 2002). Os resultados obtidos na utilização dos dois exercícios “esteira rolante” e “natação” mostram-se promissores à obtenção de protocolos de avaliação para prescrição de treinamento de ratos wistar. Por outro lado, ainda persistem dúvidas a respeito de qual seria o exercício (natação ou esteira rolante) mais apropriado para desencadear maior quantidade de respostas ao exercício e menor quantidade de respostas associadas a estresse diversos.

## **2 - OBJETIVO**

Este estudo foi delineado para comparar biomarcadores do estresse durante exercício agudo de intensidade conhecida e equivalente à transição aeróbio/anaeróbio em ratos exercitados por natação e por corrida em esteira rolante. Para determinar a transição metabólica dos animais durante o exercício foi empregada a máxima fase estável de lactato, MFEL. Como biomarcadores de estresse utilizamos as concentrações sanguíneas de hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) e corticosterona, bem como as concentrações de colesterol e o ácido ascórbico nas glândulas adrenais.

### **3 - REVISÃO DA LITERATURA**

#### **3.1. Estresse**

As primeiras referências à palavra estresse, significando “aflição e adversidade” datam do século XIV (LAZARUS & LAZARUS, 1994). No século XVII, o vocábulo que tem origem no latim, passou a ser utilizado no inglês para designar “desconforto, opressão e adversidade” (SPIEBERGER, 1979). Em 1936, o endocrinologista Hanz Selye (1985) introduziu o termo estresse, para designar uma síndrome produzida por vários agentes nocivos. Sua ênfase era na resposta não específica do organismo a situações que o enfraquecem ou fizessem-no adoecer a qual ele chamou de “síndrome do stress biológico” (LIPP, 1996).

Estresse atualmente é definido como uma reação do organismo, com componentes físicos e/ou psicológicos, causadas pelas alterações psicofisiológicas que ocorrem quando agentes estressores externos ou internos confrontem o mesmo (LIPP, 1996; TSIGOS & CHROUSOS, 2002).

O meio interno no qual todas as células funcionam deve ser regulado com exatidão no que concerne à composição, a temperatura e à concentração hidrogeniônica. Essa tarefa é realmente difícil, exigindo muitos mecanismos homeostáticos, onde existem dois sistemas de controle principais em torno dos quais funcionam todos os mecanismos homeostáticos: 1- Sistema Nervoso Central, mediado



pelo sistema simpatoadrenal, que é capaz de realizar ajustes muito rapidamente nos grandes segmentos corporais; 2- Sistema Endócrino, por meio do qual substâncias químicas denominadas hormônios controlam funções e respostas celulares específicas, embora de uma maneira mais lenta (MAZZEO, 1991; ORTH et al., 1992).

Recentemente, Sothmann et al. (1996) abordaram a questão da adaptação cruzada ao estresse, induzida pelo treinamento físico. Essa hipótese sugere que um estresse de intensidade e/ou duração suficiente é capaz de induzir uma adaptação do sistema de resposta ao estresse, a qual se efetuará sob outras situações de estresse similares. Um fator que dificulta a interpretação dos resultados referentes ao exercício é a maneira como o mesmo é realizado: espontaneamente ou forçado, interfere, ainda, o tipo de ergômetro usado. Isso pode implicar em diferentes adaptações no sistema simpatoadrenal (DISHMAN, 1997).

### **3.2. Respostas hormonais ao exercício**

O exercício acarreta aumentos ou reduções nas concentrações sanguíneas de alguns hormônios, em relação às concentrações de repouso, para que o organismo consiga a maior demanda energética e manter homeostase (LAMPMAN & SCHTEINGART, 1991). Com bastante frequência, as elevações ou reduções refletem diretamente ajustes no ritmo de secreção hormonal por parte de uma glândula endócrina. Entretanto, as modificações nas concentrações hormonais podem refletir, também, mudanças nas taxas de renovação metabólica ou nas taxas de depuração, assim como efeitos da hemoconcentração (KIRWAN et al., 2000; SMILIOS et al., 2003).

Durante exercícios submáximos de curta duração, a concentração da maioria dos hormônios está elevada, com exceção da insulina, que declina e dos hormônios

tireóideos, que não respondem (TYNDALL et al., 1996). O aumento pode estar relacionado ao sistema nervoso simpático (GARRETT & KIRKENDALL, 2003).

A maior parte dos estudos mostrou que exercícios de intensidade mais alta resultam em aumentos maiores aos hormônios que respondem ao esforço: ACTH, cortisol, catecolaminas e prolactina. O aumento desses hormônios não somente influencia o metabolismo, mas também o sistema cardiovascular, respiratório, digestivo e renal. Já se tratando de exercícios prolongados, ocorre elevação dos hormônios que sustentam a disponibilidade dos substratos energéticos, esses incluem o hormônio do crescimento (GH), cortisol, glucagon e as catecolaminas (KOIVISTO, 1980; DISHIMAN et al., 2000; GARRETT & KIRKENDALL, 2003).

### **3.2.1. Glândula adrenal**

As adrenais localizam-se no retroperitônio, logo adiante de cada rim, na gordura que os envolve. Cada adrenal é constituída, de duas entidades funcionais distintas. A zona externa ou córtex, que compreende 80 a 90% da glândula, constitui a fonte de hormônios esteróides (todos esses hormônios são sintetizados a partir do esteróide colesterol). A zona interna ou medula, que forma 10 a 20% restantes da glândula, representa a fonte de hormônios denominados catecolaminas (MELLO et al., 2004).

O córtex da adrenal é responsável pela produção e liberação dos três mais importantes tipos de hormônios esteróides: glicocorticóides, mineralocorticóides e gonadocorticóides. A função essencial dos glicocorticóides é influenciar o metabolismo de carboidratos, lipídeos e proteínas das células e auxiliar no fornecimento de resistência aos estressores. Os glicocorticóides estão sob controle do ACTH, um peptídeo, que é secretado pela pituitária anterior (URHAUSEN et al., 1995; INDER et al., 1998; GARRETT & KIRKENDALL, 2003).

Azevedo (1994) relatou diferenças no peso relativo das adrenais de ratos sedentários e treinados, sendo que os treinados apresentaram valores significativamente superiores aos sedentários. No mesmo trabalho foi demonstrada que os ratos treinados apresentavam também uma maior secção transversa da adrenal comparada com os sedentários. Estes achados indicaram que o treinamento físico de natação representou um fator de estresse para os animais que resultou em hipertrofia da glândula adrenal.

#### **3.2.1.1. Colesterol da glândula adrenal**

Uma pequena quantidade de colesterol é usada pelas glândulas supra-renais para sintetizar os hormônios esteróides do córtex (MELLO et al., 2004). Pequena quantidade de colesterol pode ser sintetizada pelas células do córtex através do acetato, entretanto 80% do colesterol utilizado na síntese dos esteróides são provenientes das lipoproteínas de baixa densidade (LDL) do plasma. Uma vez no interior da célula, o colesterol sofre ação de várias enzimas específicas até sua conversão em cortisol (corticosterona nos ratos).

O exercício agudo induz alterações fisiológicas nas glândulas supra-renais, como depleção da concentração de colesterol associada ao aumento da síntese de corticóides (TEPPERMAN, 1977). Segundo Parisková (1982), em estudos experimentais utilizando ratos, os teores de colesterol da glândula adrenal estão diretamente associados à duração, intensidade e o tipo de treinamento que os animais foram submetidos.

#### **3.2.1.2. Ácido ascórbico da glândula adrenal**

A vitamina C é um cristal sólido, branco, estável, inodoro e de sabor ácido. Possui fórmula empírica  $C_6H_8O_6$ , sendo solúvel em água, pouco solúvel em álcool e insolúvel em solventes orgânicos. A característica bioquímica de ácido é devido a

presença de 2 átomos de hidrogênio enólico ionizáveis (ROTTA, 2003; PFANZAGL, 2005).

Segundo Rotta (2003), experimentos com ácido ascórbico em cobaia permitem deduções aplicáveis ao homem por comparação e extrapolação, devido principalmente à similaridade quanto à deficiência enzimática que impede a síntese dessa vitamina nestas espécies.

O ácido ascórbico e o ácido deidroascórbico são encontrados em maiores quantidades em órgãos constituídos de tecidos que possuem uma intensa atividade metabólica como hipófise, gônadas, tireóide e adrenais, uma vez que o ácido deidroascórbico pode atuar nas reações celulares que envolvem transporte de oxigênio (ARADI et al., 1985; ROTTA, 2003). Sabe-se que o ácido ascórbico é um potente redutor envolvido nas reações de oxi-redução ocorridas durante a síntese dos glicocorticóides pelo córtex adrenal (BAKER, 1966). Isso provoca a depleção da vitamina na adrenal quando do aumento da secreção de glicocorticóides.

Estudos demonstraram que a glândula adrenal de animais submetidos a inúmeras situações de estresse como exposição ao frio, lesões e exercício agudo apresentou redução dos teores de ácido ascórbico e colesterol. Sendo que, a concentração de ácido ascórbico diminuiu de maneira mais abrupta do que a concentração de colesterol (CHENG et al., 1949; ROTTA, 2003).

### **3.2.1.3. Hormônio adrenocorticotrófico (ACTH)**

A liberação de ACTH é controlada por uma alça de feedback negativa que se origina no hipotálamo e envolve a pituitária anterior e o córtex da adrenal, o eixo hipotalâmico-pituitário-adrenal (SCRIBNER et al., 1993). Por exemplo, o hormônio liberador da corticotrofina (CRH) do hipotálamo, via mecanismo que envolve a

serotonina (5-HT), estimula a hipófise anterior a liberar o ACTH, o qual age no córtex supra-renal (camada externa da glândula supra-renal) e desencadeia a liberação do hormônio cortisol (LUCIANO, 1991; NELSON, 2002).

O estresse não altera diretamente os níveis sanguíneos dos hormônios adrenocorticais, do tipo glicocorticóides (cortisol e corticosterona), mas primeiramente aumenta a produção do hormônio adrenocorticotrófico (ACTH), pela hipófise anterior (HARDIE, 1992; TSIGOS & CHROUSOS, 2002).

A ação mais importante do ACTH, ao nível da supra-renal consiste em estimular a reação limitante da desmolase (colesterol - pregnenolona). O hormônio trópico também aumenta a disponibilidade de colesterol, ao estimular sua captação ativa do plasma, a sua síntese de novo, a partir da acetil-Coa, bem como a colesterol-éster hidroxilase, a enzima que libera colesterol a partir de sua forma esterificada armazenada. Neste aspecto, demonstrou-se que o ACTH induz alterações morfológicas da célula supra-renal, através de suas ações sobre microtúbulos e microfilamentos do citoesqueleto. Essas ações podem levar os vacúolos contendo colesterol até sua associação com as mitocôndrias (MELLO et al., 2004).

Foi relatado que as concentrações de ACTH no plasma venoso aumentam de dois a cinco vezes acima dos níveis de repouso, respectivamente, após vinte minutos de corrida com 80% do VO<sub>2</sub> máximo e após corrida progressiva até exaustão (INDER et al., 1998). Galbo (1993) verificou que a concentração de ACTH aumenta com a execução de exercício dinâmico desde que a intensidade do mesmo seja maior que 25% do VO<sub>2</sub> máximo.

#### **3.2.1.4. Glicocorticóides**

Dentre os glicocorticóides, o que representa um papel mais importante é o cortisol, no homem, e a corticosterona na maioria dos roedores, sendo que, ambos apresentam ações fisiológicas equivalentes (BERNE & LEVI, 1990).

Uma variedade de estresses, tanto fisiológicos quanto psicológicos, estimula a liberação do hormônio cortisol pelo córtex da supra-renal. O cortisol age no músculo, fígado e tecido adiposo, provocando catabolismo, para suprir o organismo com combustíveis para uma iminente atividade intensa (WRAY et al., 2002). O cortisol é um hormônio de ação relativamente lenta, que altera o metabolismo mudando os tipos e as quantidades de certas enzimas que são sintetizadas nas células-alvo, mais do que regulando as moléculas de enzimas já existentes (FILAIRE et al., 1996; NELSON, 2002).

A liberação do cortisol está sob influência do ACTH, assim, por exemplo, quando um exercício começa, existe um curto tempo de atraso (5 a 15 minutos) para ocorrer à resposta do cortisol, mas os níveis aumentam a uma taxa proporcional a intensidade dos exercícios. Os níveis máximos finais de cortisol atingidos são dependentes da duração total do exercício. Obviamente, um exercício de curta duração pode não conceder tempo suficiente para que ocorra a resposta de pico do cortisol durante o exercício (VIRU, 1992; GALBO, 1993).

O eixo Hipotálamo-Hipófise-Adrenais (HHA) exibe um ritmo circadiano, sendo ativado pelo estresse e inibido pelos glicocorticóides. No entanto, em situações de estresse, nas quais a secreção de glicocorticóides está aumentada, a atividade no eixo HHA não é inibida e pode até ser aumentada (NATELSON et al., 1981; DALLMAN, 1993).

### **3.2.1.5.Catecolaminas**

A medula supra-renal constitui a fonte das catecolaminas circulante epinefrina (adrenalina). Também secreta pequena quantidade de norepinefrina (noradrenalina), nominalmente um neurotransmissor que, em determinadas circunstâncias, também pode atuar como hormônio (BERNE & LEVI, 1990).

Praticamente toda epinefrina circulante provém da secreção da medula supra-renal, enquanto, a maior parte de norepinefrina deriva das terminações nervosas simpáticas e do cérebro (BERNE & LEVI, 1990; TSIGOS & CHROUSOS, 2002).

As catecolaminas secretadas pela medula supra-renal exibem íntima relação fisiológica com as ações do sistema nervoso simpático. Portanto, já que o sistema simpático é ativado sob condições de luta ou fuga, uma concentração sanguínea elevada de catecolaminas é esperada durante as sessões de exercício (URHAUSEN et al., 1995; TSIGOS & CHROUSOS, 2002). O aumento nesses hormônios está relacionado com a intensidade do trabalho, quanto maior a intensidade maior será o aumento. Os aumentos na adrenalina e noradrenalina plasmáticas durante o exercício tanto progressivo quanto contínuo estão altamente correlacionados com as concentrações plasmáticas do AMP cíclico. Observa-se uma elevação significativa nas catecolaminas plasmáticas quando indivíduos alcançam 80% do VO<sub>2</sub> máximo (MAZZEO, 1991; FOX, 1998).

## **4 - MATERIAL E MÉTODOS**

### **4.1. Animais**

Foram utilizados ratos (n=41), da linhagem Wistar (*Rattus Norvegicus albinus*), com 61 dias de idade no início do experimento. Os animais provenientes do Biotério Central da UNESP – Botucatu foram mantidos no Biotério do Laboratório de Biodinâmica do Departamento de Educação Física da UNESP - Campus de Rio Claro. Os animais foram mantidos em gaiolas coletivas (5 ratos por gaiola) à temperatura de  $25\pm 1^{\circ}\text{C}$  e fotoperíodo claro/escuro de 12/12 horas, com livre acesso a água e ao alimento (ração balanceada padrão – Purina). Todos os experimentos com os animais foram realizados de acordo com o European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and other Scientific Purposes (Council of Europe n. 123, Strasburg, 1985).

### **4.2. Delineamento e grupos experimentais**

Os animais foram distribuídos em 5 grupos, em função do exercício (natação ou esteira rolante) e da condição de sacrifício (intensidade do exercício agudo) em:

- **Máxima Fase Estável de Lactato na Esteira (ME):** constituído de ratos que depois de selecionados, adaptados e efetuado o teste de máxima fase estável de lactato durante corrida em esteira (itens 4.3.1.1. e 4.3.1.3.), foram sacrificados



imediatamente após exercício contínuo de 25 minutos em intensidade de máxima fase estável de lactato.

- **Superior à Intensidade de Máxima Fase Estável de Lactato na Esteira (SE):** constituído de ratos que depois de selecionados, adaptados e efetuado o teste de máxima fase estável de lactato durante corrida em esteira (itens 4.3.1.1. e 4.3.1.3.), foram sacrificados imediatamente após exercício exaustivo em intensidade 25% superior a máxima fase estável de lactato.
- **Máxima Fase Estável de Lactato na Natação (MN):** constituído de ratos que depois de adaptados e efetuado o teste de máxima fase estável de lactato durante exercício de natação (itens 4.3.1.2. e 4.3.1.4.), foram sacrificados imediatamente após exercício contínuo de 25 minutos em intensidade de máxima fase estável de lactato.
- **Superior à Intensidade de Máxima Fase Estável de Lactato na Natação (SN):** constituído de ratos que depois de adaptados e efetuado o teste de máxima fase estável de lactato durante exercício de natação (itens 4.3.1.2. e 4.3.1.4.), foram sacrificados imediatamente após exercício exaustivo em intensidade 25% superior a máxima fase estável de lactato.
- **Controle (C):** constituído de ratos que foram sacrificados em repouso.

### **4.3. Avaliações**

#### **4.3.1. Avaliações prévias ao sacrifício dos animais**

Durante o período experimental foram realizadas mensurações relativas ao peso e comprimento corporal dos animais. Além dessas mensurações previamente efetuadas os animais foram submetidos aos seguintes testes e procedimentos:

#### **4.3.1.1. Seleção dos ratos corredores e adaptação ao exercício na esteira**

O processo de seleção dos ratos corredores ocorreu por 10 dias consecutivos, com os animais correndo por 5 minutos na velocidade de 15m/min. Os animais que correram por 9 ou 10 dias foram selecionados. Posteriormente, os animais foram adaptados ao exercício na esteira. A adaptação consistiu de corridas diárias, 5 dias/semana, durante 3 semanas, onde a duração e a velocidade aumentaram progressivamente. O objetivo da adaptação foi reduzir o estresse causado pela corrida sem promover alterações fisiológicas relativas ao treinamento físico.

#### **4.3.1.2. Adaptação ao exercício de natação**

A adaptação foi realizada em um tanque cilíndrico de 120cm de profundidade x 80cm de diâmetro, com temperatura da água  $31 \pm 1$  °C. A adaptação consistiu de esforços diários de natação, 5 dias/semana, durante 3 semanas, onde a duração e a sobrecarga (peso de chumbo fixado no dorso do animal) aumentaram progressivamente. O objetivo da adaptação foi reduzir o estresse causado pela natação sem promover alterações fisiológicas relativas ao treinamento físico.

#### **4.3.1.3. Teste de máxima fase estável de lactato (MFEL) na esteira**

Depois de adaptados ao exercício, os animais foram submetidos a 3 testes de exercício nas velocidades de 15, 20 e 25 m/min. Os testes foram efetuados com 48 horas de intervalo entre eles, com a seqüência das velocidades distribuídas de maneira aleatória, onde a mesma velocidade nunca foi utilizada duas vezes pelo mesmo rato. Cada teste consistiu de 25 minutos contínuos de corrida na velocidade estabelecida ou até a exaustão. Houve coleta de sangue através de pequeno corte na extremidade da

cauda dos animais efetuado em repouso e a cada 5 minutos de exercício durante o teste. A lactícemia durante o teste foi considerada estável quando não houve diferença superior a 1 mmol/L dos 10 aos 25 minutos de exercício.

#### **4.3.1.4. Teste de máxima fase estável de lactato (MFEL) na natação**

Depois de adaptados ao exercício, os animais foram submetidos a 3 testes de exercício com intensidades equivalentes a sobrecargas (peso de chumbo fixado no dorso do animal) de 5,0; 5,5 e 6,0% do peso corporal (PC). Os testes foram efetuados com 48 horas de intervalo entre eles, com a seqüência das intensidades (sobrecargas) distribuídas de maneira aleatória, onde a mesma intensidade (sobrecarga) nunca foi utilizada duas vezes pelo mesmo rato. Cada teste consistiu de 25 minutos contínuos de natação na intensidade estabelecida ou até a exaustão. Houve coleta de sangue através de pequeno corte na extremidade da cauda dos animais efetuado em repouso e a cada 5 minutos de exercício durante o teste. A lactícemia durante o teste foi considerada estável quando não houve diferença superior a 1 mmol/L dos 10 aos 25 minutos de exercício.

#### **4.3.1.5. Análise do lactato sanguíneo**

As amostras de sangue (25 µL) foram coletadas através de pequeno corte na extremidade da cauda dos animais durante os testes e depositado em tubos de eppendorf (1,5 mL) contendo 50 µl de fluoreto de sódio (1%). Os tubos de eppendorf foram armazenados em freezer para posterior análise da concentração de lactato das amostras em um analisador de lactato (YSI model 1500 SPORT).

#### **4.3.2. Avaliações posteriores ao sacrifício dos animais**

O sacrifício dos animais foi realizado por decapitação com os ratos em repouso ou imediatamente após sessão aguda de 25 minutos ou exaustiva de exercício (dependendo do grupo pertencente), para coleta do material biológico: sangue (para obtenção do soro), músculo esquelético (sóleo e gastrocnêmio) e glândulas adrenais.

#### **4.3.2.1. Peso fresco total dos músculos (sóleo e gastrocnêmio)**

Os músculos inteiros (sóleo e gastrocnêmio) foram retirados e pesados em balança analítica. O peso relativo dos músculos foi determinado dividindo-se o valor obtido na pesagem pelo peso total do animal no dia do sacrifício.

#### **4.3.2.2. Peso fresco das glândulas adrenais**

Depois de retiradas e separadas da gordura que as envolve sobre um papel de filtro umedecido em solução salina, foi efetuada a pesagem em balança analítica das glândulas adrenais. O peso relativo das glândulas adrenais foi determinado dividindo-se o valor obtido na pesagem pelo peso total do animal no dia do sacrifício.

#### **4.3.2.3. Glicose sérica**

O método utilizado para a determinação da glicose sérica foi o enzimático (glicose oxidase), em três tubos contendo 2 mL de solução de Fenol 2,5 mM, 4(p-benzoquinona monoamino) Fenzona 1,4 mM e Tampão Tris 0,04 mM, glicose oxidase 2,7 U/mL e peroxidase 0,33 U/mL. Foi adicionado 20 µL de soro. Após 15 minutos de incubação em banho 37°C, as absorbâncias das amostras foram lidas em espectrofotômetro a 505 nm (HENRY et al., 1974).

#### **4.3.2.4. Ácidos Graxos Livres séricos**

Para determinação desse substrato, foram adicionadas em 0,3 mL de soro, 7 mL da mistura solvente clorofórmio, heptano e metanol, na proporção de 28:21:1, seguida de forte agitação e centrifugação a 700 xg por um período de 5 minutos. O sobrenadante foi aspirado e a ele adicionado uma solução de  $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$  0,05 M, trietanolamina 0,10 M, NaOH 0,035 N e NaCl 35% a pH 8,1, seguido de nova agitação e centrifugação. A 3,0 mL de sobrenadante foram adicionados 0,5 mL de solução de dietilditiocarbamato de sódio (1mg/ml de butanol secundário). A concentração de AGL foi medida a 435 nm contra curva de calibração de ácido palmítico (REGOUW et al., 1971).

#### **4.3.2.5. Glicogênio tecidual**

Frações entre 250 mg dos músculos sóleo e gastrocnêmio e 500 mg do fígado foram pesadas após o sacrifício do animal e imediatamente digeridas em banho a 100°C em 1,0 ml para os músculos sóleo e gastrocnêmio e 2,0 ml para o fígado de KOH 30% durante 60 minutos. Foram adicionados 20 µL de solução saturada de  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  e o glicogênio foi precipitado através de duas passagens de 3,0 ml de fenol 70% a quente, seguido de centrifugação (SJORGREEN et al., 1958). A determinação colorimétrica foi realizada em 1 ml de extrato, 20 µL de fenol a 80% e 2,0 ml de ácido sulfúrico concentrado, após fervura de 15 minutos. A absorbância foi medida em espectrofotômetro a 490 nm. Foram utilizadas soluções de glicose para as curvas de calibração de acordo com Dubois et al. (1956).

#### **4.3.2.6. Ácido ascórbico da glândula adrenal**

A glândula adrenal esquerda foi retirada e macerada para a determinação do conteúdo de ácido ascórbico. O ácido ascórbico foi extraído com ácido perclórico/metafosfórico, posteriormente, foram adicionados 3 mL de tampão contendo

30 mg/100mL de 2-6-diclorofenol indofenol a 3 mL de extrato filtrado da glândula supra-renal para coloração. A concentração de ácido ascórbico foi medida a 520 nm contra curva padrão de ácido ascórbico (MIDLIN & BUTLER, 1938).

#### **4.3.2.7. Colesterol da glândula adrenal**

Depois de pesada, a glândula adrenal direita foi depositada em um tubo de ensaio contendo 100 µL de KOH à 30%, onde foi efetuada a extração. O colesterol da glândula adrenal foi aferido pelo método enzimático/colorimétrico (Kit Labtest) e leitura em espectrofotômetro a 540 nm.

#### **4.3.2.8. Hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) sérico**

O hormônio ACTH foi determinado através do método de radioimunoensaio de fase sólida, Kit Coat-A-Count da Diagnostic Products Corporation (DPC).

#### **4.3.2.9. Corticosterona sérica**

O hormônio corticosterona foi determinado através do método de radioimunoensaio de fase sólida, Kit Coat-A-Count da Diagnostic Products Corporation (DPC).

#### **4.3.3. Análise estatística**

Os resultados são apresentados como Média ± Desvio Padrão. Os procedimentos estatísticos incluíram Análise de Variância Two-Way (ANOVA), para amostras independentes, seguidas pelo teste post-hoc de Student-Newman-Kels onde apropriado. O nível de significância foi de ( $p < 0,05$ ).

## **5 - RESULTADOS**

A figura 1 e a tabela 1 mostram os resultados referentes aos testes para identificação da máxima fase estável de lactato (MFEL) durante os exercícios de corrida em esteira (A) e natação (B).

Durante exercício de corrida em esteira em velocidades de 15 e 20 m/min, observou-se estabilização da concentração de lactato sanguíneo dos 10 aos 25 minutos de exercício nos valores médios de  $3,2\pm 0,1$  e  $3,8\pm 0,1$  mmol/L, respectivamente. Na velocidade de 25 m/min houve aumento progressivo da concentração de lactato sanguíneo. Nessa velocidade, os animais não completaram o teste, pois entraram em exaustão após 15 minutos de exercício. Dessa forma a MFEL foi obtida na velocidade de 20 m/min.

Durante exercício de natação com sobrecargas de 5,0 e 5,5% do peso corporal (PC), observou-se estabilização da concentração de lactato sanguíneo dos 10 aos 25 minutos de exercício, nos valores médios de  $5,1\pm 0,3$  e  $5,2\pm 0,3$  mmol/L, respectivamente. Na sobrecarga de 6,0% do peso corporal, houve aumento progressivo da concentração de lactato sanguíneo. Dessa forma a MFEL foi obtida na sobrecarga de 5,5% do PC.

A tabela 2 e a figura 2 mostram os resultados referentes às concentrações séricas de glicose e ácidos graxos livres (AGL) após o sacrifício dos animais. Foram

encontradas alterações ( $p < 0,05$ ) na glicemia dos animais dos grupos submetidos à natação MN e SN (valores maiores) quando comparada aos valores glicêmicos do grupo controle (C) e dos animais submetidos à corrida em esteira (ME e SE). Para a concentração de AGL, houve diferença no final do experimento para os animais pertencentes aos grupos submetidos à natação MN e SN (valores maiores) comparados ao grupo controle (C). Não foi encontrada diferença ( $p < 0,05$ ) para os demais grupos estudados.

Os dados do ácido ascórbico e colesterol da glândula adrenal dos diferentes grupos após o sacrifício encontram-se na tabela 3 e na figura 3. A análise dos resultados mostrou valores maiores para os teores de ácido ascórbico do grupo controle (C) quando comparados aos teores dos grupos submetidos à natação (MN e SN). Pôde-se verificar diferença na concentração do ácido ascórbico ( $p < 0,05$ ), quando comparados os grupos submetidos ao exercício esteira aos grupos submetidos ao exercício natação (ME e SE > MN e SN). Os resultados da concentração de colesterol da glândula adrenal seguem comportamento semelhante aos encontrados para a concentração de ácido ascórbico, onde o grupo controle (C) e grupos submetidos ao exercício esteira (ME e SE) mostraram maiores valores comparados aos grupos submetidos ao exercício natação (MN e SN) ( $p < 0,05$ ).

Os resultados mostrados na tabela 4 e na figura 4 são referentes às concentrações séricas dos hormônios adrenocorticotrófico (ACTH) e corticosterona após o sacrifício dos animais. As concentrações séricas de ACTH encontradas nos grupos submetidos à natação (MN e SN) foram superiores ( $p < 0,05$ ) quando comparadas às concentrações dos demais grupos experimentais (C, ME e SE). Quando analisados os grupos submetidos à natação, os animais pertencentes ao grupo SN obtiveram maiores valores de ACTH

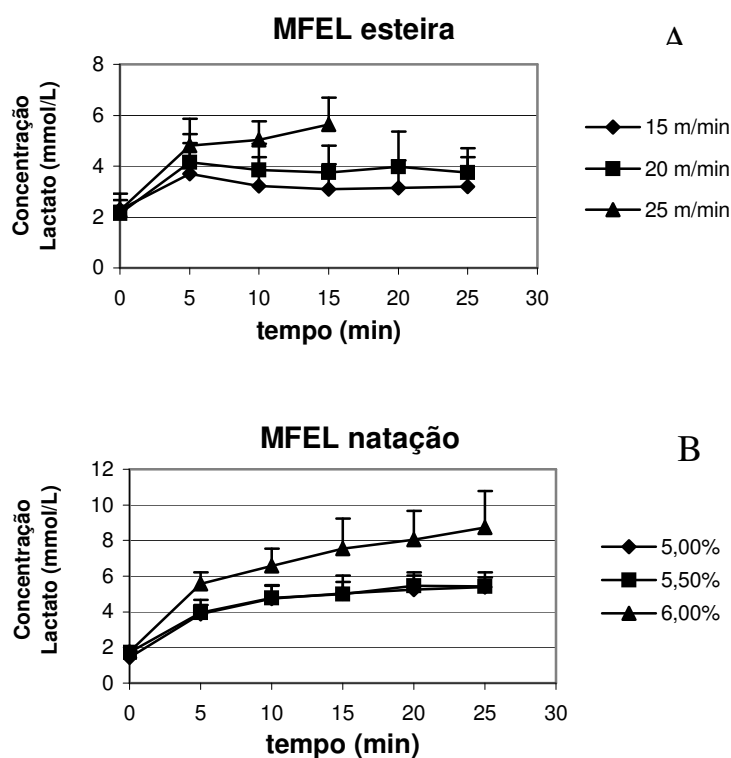


sérico comparados aos valores dos animais do grupo MFEL. O grupo SN mostrou maiores ( $p < 0,05$ ) concentrações de corticosterona, comparado aos demais grupos (C, MN, ME e SE). Também, o grupo MFEL do exercício natação (MN) mostrou maiores valores, quando comparados aos valores dos grupos controle (C) e MFEL do exercício esteira (ME). Referente a esse mesmo parâmetro, os animais submetidos à corrida em esteira (ME e SE) apresentaram valores elevados quando comparados aos valores do grupo controle (C).

Os dados referentes ao glicogênio dos músculos gastrocnêmio e sóleo bem como do fígado dos animais após o sacrifício encontram-se na tabela 5 e figura 5. Os resultados mostraram diferença para o músculo gastrocnêmio quando comparado o grupo controle com os grupos submetidos à natação ( $C > MN$  e  $SN$ ). Enquanto que, para o músculo sóleo foram obtidos valores inferiores nos animais submetidos à corrida em esteira (ME e SE) comparados aos valores dos animais submetidos à natação (MN e SN) e do grupo controle (C). Não houve diferença na concentração de glicogênio hepático para os grupos estudados.

**Tabela 1.** Concentração de lactato sanguíneo (mmol/L) durante os testes para identificação de máxima fase estável de lactato (MFEL) no exercício de corrida em esteira (A) e natação (B).

VELOCIDADE (m/min)	TEMPO CORRIDA					
	0	5	10	15	20	25
15 m/min (n=13)	2,30±0,62	3,70±1,20	3,23±1,11	3,09±0,99	3,14±1,09	3,20±1,14
20 m/min (n=13)	2,15±0,29	4,15±1,12	3,86±1,01	3,76±1,04	3,98±1,39	3,75±0,96
25 m/min (n=13)	2,27±0,59	4,81±1,04	5,02±0,75	5,63±1,06	–	–
CARGA (% do PC)	TEMPO NATAÇÃO					
	0	5	10	15	20	25
5,0 (% do PC) (n=18)	1,43±0,38	3,89±0,51	4,75±0,73	5,03±1,01	5,26±0,97	5,38±0,83
5,5 (% do PC) (n=18)	1,73±0,26	3,94±0,72	4,79±0,67	4,99±0,67	5,46±0,57	5,41±0,52
6,0 (% do PC) (n=18)	1,76±0,27	5,57±0,63	6,56±0,97	7,53±1,70	8,06±1,59	8,73±2,06

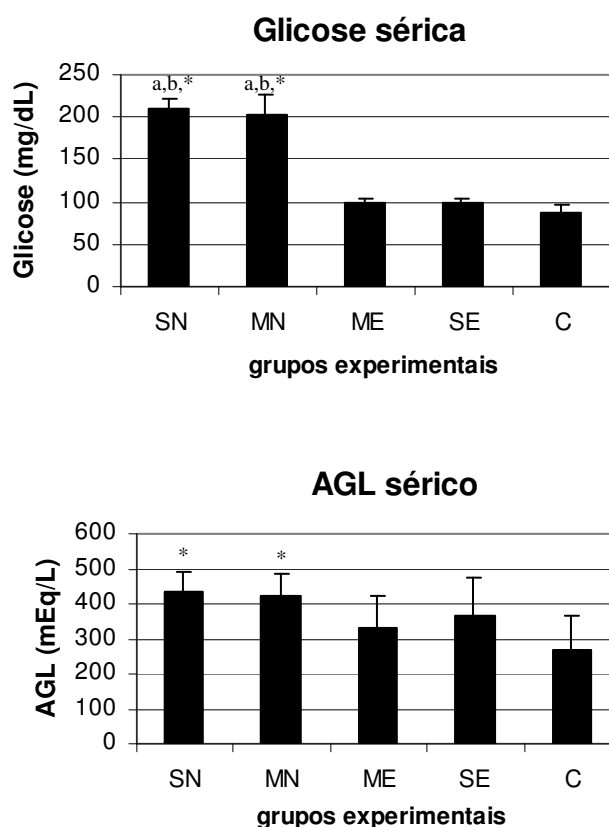


**Figura 1.** Concentração de lactato sanguíneo durante teste para identificação de máxima fase estável de lactato (MFEL) no exercício corrida em esteira (A) e natação (B).

**Tabela 2.** Glicose sérica (mg/dL), ácidos graxos livres séricos (mEq/L) e lactato sanguíneo (mmol/L) dos animais ao final do experimento em repouso (C) e após sessão de exercício em intensidade equivalente a máxima fase estável de lactato (M) e 25% superior a esta (S) nos exercícios natação (N) e esteira (E).

GRUPOS	GLICOSE	AGL	LACTATO
SN (n=09)	208,75 ± 12,46 <sup>a,b,*</sup>	434,04 ± 57,38 <sup>*</sup>	6,65 ± 0,71
MN (n=09)	202,50 ± 23,75 <sup>a,b,*</sup>	424,17 ± 60,45 <sup>*</sup>	5,36 ± 0,3
ME (n=07)	98,50 ± 6,27	332,16 ± 89,26	3,55 ± 0,03
SE (n=06)	99,17 ± 5,16	366,41 ± 105,71	5,99 ± 1,32
C (n=10)	88,00 ± 8,48	267,86 ± 97,65	1,20 ± 0,44

Resultados expressos como média ± desvio padrão, com o número de animais entre parênteses. SN = 25% superior à MFEL (natação), MN = MFEL (natação), ME = MFEL (esteira), SE = 25% superior à MFEL (esteira) e C = controle (repouso). \* Diferença significativa em relação ao grupo controle, a ≠ ME e b ≠ SE (ANOVA Two Way, Student-Newman-Kels test p<0,05).

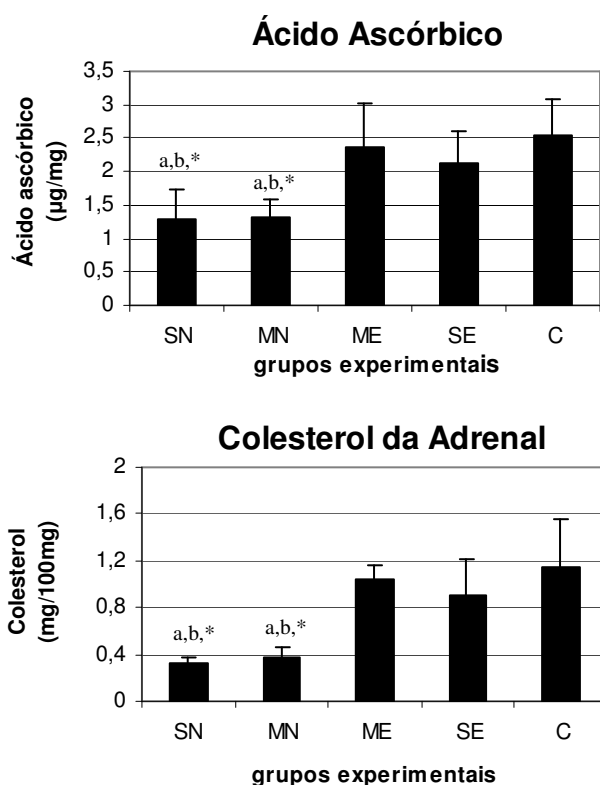


**Figura 2.** Glicose sérica (A), ácidos graxos livres séricos (B) dos animais ao final do experimento em repouso e após sessão de exercício em intensidade equivalente a MFEL e 25% superior a esta nos exercícios (natação e esteira). MN= MFEL (natação); SN= 25% superior à MFEL (natação); C= controle; ME= MFEL (esteira); SE= 25% superior à MFEL (esteira). \* Diferença significativa em relação ao grupo controle, a ≠ ME e b ≠ SE (ANOVA Two Way, Student-Newman-Kels test p<0,05).

**Tabela 3.** Ácido ascórbico ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ ) e colesterol da glândula adrenal ( $\text{mg}/100\text{mg}$ ) dos animais ao final do experimento em repouso (C) e após 25 minutos de exercício em intensidade equivalente a máxima fase estável de lactato (M) e 25% superior a esta (S) nos exercícios natação (N) e esteira (E).

GRUPOS	ÁCIDO ASCÓRBICO	COLESTEROL
SN (n=09)	$1,28 \pm 0,46^{a,b,*}$	$0,33 \pm 0,04^{a,b,*}$
MN (n=09)	$1,32 \pm 0,27^{a,b,*}$	$0,37 \pm 0,09^{a,b,*}$
ME (n=07)	$2,37 \pm 0,66$	$1,04 \pm 0,12$
SE (n=06)	$2,11 \pm 0,50$	$0,91 \pm 0,31$
C (n=10)	$2,54 \pm 0,53$	$1,15 \pm 0,40$

Resultados expressos como média  $\pm$  desvio padrão, com o número de animais entre parênteses. SN = 25% superior à MFEL (natação), MN = MFEL (natação), ME = MFEL (esteira), SE = 25% superior à MFEL (esteira) e C = controle (repouso). \* Diferença significativa em relação ao grupo controle, a  $\neq$  ME e b  $\neq$  SE (ANOVA Two Way, Student-Newman-Kels test  $p < 0,05$ ).

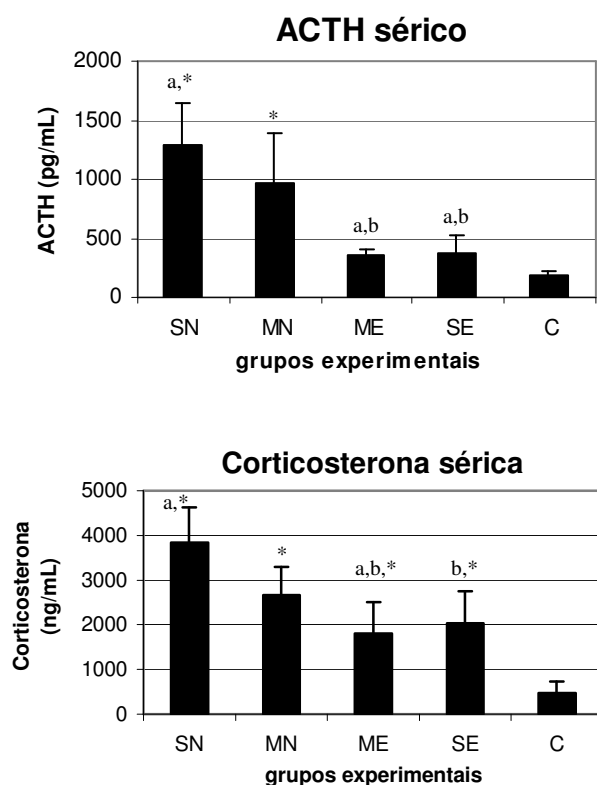


**Figura 3.** Ácido ascórbico ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ ) e colesterol da glândula adrenal ( $\text{mg}/100\text{mg}$ ) dos animais ao final do experimento em repouso e após 25 minutos de exercício em intensidade equivalente a máxima fase estável de lactato (MFEL) e 25% superior a esta nos exercícios (natação e esteira). MN= MFEL (natação); SN= 25% superior à MFEL (natação); C= controle; ME= MFEL (esteira); SE= 25% superior à MFEL (esteira). \* Diferença significativa em relação ao grupo controle, a  $\neq$  ME e b  $\neq$  SE (ANOVA Two Way, Student-Newman-Kels test  $p < 0,05$ ).

**Tabela 4.** Corticosterona sérica (ng/mL) e hormônio adrenocorticotrófico sérico (pg/mL) dos animais ao final do experimento em repouso (C) e após sessão de exercício em intensidade equivalente a máxima fase estável de lactato (M) e 25% superior a esta (S) nos exercícios natação (N) e esteira (E).

GRUPOS	ACTH	CORTICOSTERONA
SN (n=09)	1284,44 ± 361,36 <sup>a,*</sup>	3845,51 ± 788,83 <sup>a,*</sup>
MN (n=09)	963,37 ± 420,47 <sup>*</sup>	2661,26 ± 627,89 <sup>*</sup>
ME (n=07)	348,78 ± 60,90 <sup>a,b</sup>	1802,74 ± 700,42 <sup>a,b,*</sup>
SE (n=06)	372,37 ± 145,80 <sup>a,b</sup>	2027,96 ± 724,94 <sup>b,*</sup>
C (n=10)	179,32 ± 46,31	467,11 ± 262,12

Resultados expressos como média ± desvio padrão, com o número de animais entre parênteses. SN = 25% superior à MFEL (natação), MN = MFEL (natação), ME = MFEL (esteira), SE = 25% superior à MFEL (esteira) e C = controle (repouso). \* Diferença significativa em relação ao grupo controle, a ≠ MN e b ≠ SN (ANOVA Student-Newman-Kels test p<0,05).

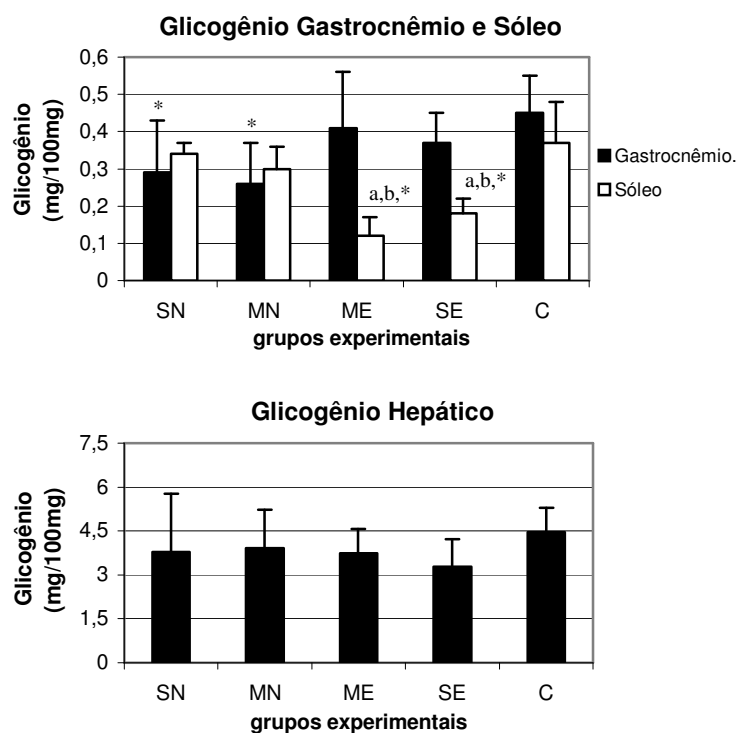


**Figura 4.** Corticosterona sérica (ng/mL) e hormônio adrenocorticotrófico sérico (pg/mL) dos animais ao final do experimento em repouso e após sessão de exercício em intensidade equivalente a máxima fase estável de lactato (MFEL) e 25% superior a esta nos exercícios (natação e esteira). MN= MFEL (natação); SN= 25% superior à MFEL (natação); C= controle; ME= MFEL (esteira); SE= 25% superior à MFEL (esteira). \* Diferença significativa em relação ao grupo controle, a ≠ MN e b ≠ SN (ANOVA Two Way, Student-Newman-Kels test p<0,05).

**Tabela 5.** Glicogênio dos músculos gastrocnêmio e sóleo bem como do fígado (mg/100mg) dos animais ao final do experimento em repouso (C) e após sessão de exercício em intensidade equivalente a máxima fase estável de lactato (M) e 25% superior a esta (S) nos exercícios natação (N) e esteira (E).

GRUPOS	GASTROCNÊMIO	SÓLEO	HEPÁTICO
SN (n=09)	0,29 ± 0,14 *	0,34 ± 0,03	3,78 ± 1,99
MN (n=09)	0,26 ± 0,11 *	0,30 ± 0,06	3,91 ± 1,32
ME (n=07)	0,41 ± 0,15	0,12 ± 0,05 <sup>a,b,*</sup>	3,73 ± 0,84
SE (n=06)	0,37 ± 0,08	0,18 ± 0,04 <sup>a,b,*</sup>	3,29 ± 0,93
C (n=10)	0,45 ± 0,10	0,37 ± 0,11	4,45 ± 0,84

Resultados expressos como média ± desvio padrão, com o número de animais entre parênteses. SN = 25% superior à MFEL (natação), MN = MFEL (natação), ME = MFEL (esteira) e SE = 25% superior à MFEL (esteira) C = controle (repouso). \* Diferença significativa em relação ao grupo controle, a ≠ MN e b ≠ SN (ANOVA Student-Newman-Kels test p<0,05).



**Figura 5.** Glicogênio dos músculos gastrocnêmio e sóleo bem como do fígado (mg/100mg) dos animais ao final do experimento em repouso e após sessão de exercício em intensidade equivalente a máxima fase estável de lactato (MFEL) e 25% superior a esta nos exercícios (natação e esteira). MN= MFEL (natação); SN= 25% superior à MFEL (natação); C= controle; ME= MFEL (esteira); SE= 25% superior à MFEL (esteira). \* Diferença significativa em relação ao grupo controle, a ≠ MN e b ≠ SN (ANOVA Two Way, Student-Newman-Kels p<0,05).

## **6- DISCUSSÃO**

A determinação de “limiar”, isto é, a determinação da intensidade de exercício na qual ocorre a “transição” do metabolismo aeróbio para o anaeróbio tem se mostrado uma ferramenta útil na prescrição de exercício (BILLAT et al., 2003). Grande número de pesquisas em fisiologia do exercício têm sido conduzido em animais de laboratório e a transição “aeróbia/anaeróbia”, utilizada para determinação da intensidade do esforço (GOBATTO et al., 2001; BILLAT et al., 2004).

Para seres humanos, existe uma série de critérios já bem estabelecidos para identificação dessa “intensidade de transição” entre eles: concentração sanguínea de lactato a 4 mM/L, queda do pH sanguíneo, aumento do quociente respiratório, aumento desproporcional de lactato sanguíneo, entre outros (BILLAT et al., 2003). Em seres humanos também é possível determinar a transição do metabolismo aeróbio para o anaeróbio por método não invasivo, através da relação entre a intensidade de esforço e sua duração até a exaustão (MONOD & SCHERRER, 1965), pela determinação da chamada potência crítica (Pcrit).

Contudo, o procedimento considerado “gold standard” na validação dos demais protocolos para a identificação da transição metabólica aeróbio/anaeróbio durante exercício é o de Máxima Fase Estável de Lactato (MFEL). A MFEL representa a mais alta intensidade na qual é possível observar estabilização do lactato sanguíneo durante

exercício de endurance, devido ao equilíbrio entre a produção e a remoção da corrente sanguínea (MADER & HECK, 1986).

Como existem diferenças metabólicas entre seres humanos e ratos, é razoável supor que haja diferenças com respeito à transição metabólica durante o exercício entre ambos. Dessa forma, nos últimos anos, nosso grupo de pesquisa desenvolveu alguns protocolos para identificação da intensidade de exercício equivalente à transição metabólica de ratos durante o exercício (GOBATTO et al., 1991; VOLTARELLI et al., 2002; PRADA et al., 2004). Utilizando o conceito de MFEL, nosso grupo desenvolveu um protocolo adaptado ao rato durante exercício de natação (GOBATTO et al., 2001). Nesse estudo, a MFEL de ratos sedentários apareceu quando os animais nadaram suportando sobrecarga equivalente a 5,5 - 6% do peso corporal, com concentração sanguínea de lactato a 5,5 mmol/L.

No presente estudo a MFEL média do grupo de animais que nadou foi  $5,2 \pm 0,3$  mmol/L de lactato sanguíneo, a 5,5% do peso corporal, semelhante aos resultados obtidos por Gobatto et al. (2001). Contudo, esses resultados foram diferentes das “cargas limiars” identificadas em outro estudo de nosso grupo, através de protocolos diferentes. Voltarelli et al. (2002), empregando o teste de lactato mínimo adaptado para ratos em exercício de natação, obteve carga limiar (lactato mínimo) média de  $4,9 \pm 0,1\%$  do peso corporal, à concentração de lactato sanguíneo  $7,2 \pm 0,2$  mmol/L em animais sedentários. Utilizando o mesmo teste, Prada et al. (2004), obteve valores médios similares:  $4,97 \pm 0,22\%$  do peso corporal e lactato sanguíneo de  $7,3 \pm 0,2$  mmol/L. Nota-se, também, que as cargas limiars obtidas por Voltarelli et al. (2002) e Prada et al. (2004) foram inferiores à carga onde se observa a máxima fase estável de lactato para ratos sedentários durante exercício de natação (GOBATTO et al., 2001).



Por outro lado, os valores de lactato sanguíneo foram sempre superiores nos estudos com lactato mínimo (VOLTARELLI et al., 2002; PRADA et al., 2004) do que naqueles utilizando MFEL (GOBATTO et al., 2001 e presente estudo).

A MFEL média do grupo de ratos corredores foi obtida em 20 m/min, à concentração sanguínea de lactato de  $3,8 \pm 0,1$  mmol/L. Esses resultados foram bastante semelhantes aos obtidos por Manchado et al. (2005) ( $3,9 \pm 0,3$  mmol/L), que utilizou protocolo similar para a determinação da MFEL de ratos sedentários, durante exercício de corrida em esteira.

Pilis et al. (1993), determinaram o ponto de transição metabólica (limiar anaeróbio) em ratos durante exercício de corrida em velocidades progressivamente maiores, através da análise de concentração de lactato sanguíneo. Nesse estudo, o limiar dos animais foi identificado à velocidade de 25 m/min, à concentração de 4,0 mmol/L de lactato sanguíneo. Dessa forma os valores estimados de lactato sanguíneo na MFEL aproximam-se dos valores do limiar anaeróbio determinado por Pilis et al. (1993).

Em resumo, foi possível, com os protocolos aqui empregados, a identificação de uma intensidade de esforço (carga ou velocidade) na qual as concentrações de lactato mantiveram-se estáveis; indicando que os protocolos foram adequados à identificação da MFEL em ratos.

Após obtenção da MFEL, os animais foram submetidos a uma sessão de exercício de 25 minutos na intensidade MFEL (natação ou corrida) ou sessão de exercício exaustivo na intensidade 25% superior à MFEL (natação ou corrida).

A realização do exercício tanto de natação quanto o de corrida em ambas às intensidades implicou em aumentos das concentrações de corticosterona comparadas aos animais em repouso. Em relação às concentrações de ACTH sérico, apenas os

animais submetidos ao exercício de natação apresentaram aumentos comparados aos animais em repouso. Os animais submetidos ao exercício de corrida apresentaram alterações nas concentrações séricas de ACTH, mas não o suficiente para denotar diferença.

Considerando que o hormônio ACTH sérico secretado pela hipófise anterior seja responsável direto pela secreção do hormônio corticosterona pelas glândulas adrenais, os animais submetidos ao exercício agudo de corrida obtiveram aumentos significativos nas concentrações séricas de corticosterona apenas com alterações mínimas do ACTH, mostrando assim, uma alta sensibilidade da síntese de corticosterona para pequenas modificações no ACTH sérico.

Os resultados dos animais submetidos ao exercício de natação foram semelhantes aos relatados por Oliveira et al. (2004) em estudos realizados sobre o efeito agudo do exercício de natação em ratos, com aumentos nos hormônios corticosterona e ACTH. Diferentemente do observado no presente estudo, Kawashima et al. (2004) em pesquisa realizada com ratos exercitados em esteira encontraram aumento em ambos os hormônios corticosterona e ACTH.

Quando um animal ou ser humano é exposto a estímulos nocivos ou potencialmente nocivos, ocorre aumento da secreção de ACTH, com correspondente elevação do nível circulante de glicocorticóides, sendo essa elevação essencial para a sobrevivência (NATELSON et al., 1981; TSIGOS & CHROUSOS, 2002; SMILIOS et al., 2003).

Selye definiu os estímulos nocivos que alimentam a secreção de ACTH com conseqüente síntese de glicocorticóides como “estressores”. Atualmente esses estímulos são englobados no termo “estresse” (LIPP, 1996; TSIGOS & CHROUSOS, 2002). De

acordo com Dishman et al. (2000), este é um termo apropriado desde que sejam considerados somente aqueles estímulos que provocam aumento da secreção de ACTH. Dessa forma, o exercício natação desencadeou as respostas adequadas do eixo hipófise-córtex adrenal ao estresse, pois elevou a concentração sérica de ACTH e corticosterona.

Foram também avaliadas as concentrações de colesterol e ácido ascórbico na adrenal dos animais após a realização do exercício de corrida ou natação. Os valores de ácido ascórbico bem como de colesterol na glândula adrenal foram menores nos animais submetidos ao exercício de natação do que em repouso.

Sabendo que pequenas quantidades de colesterol são sintetizadas pela própria glândula adrenal, e que o mesmo é convertido em pregnenolona, que é o principal precursor da corticosterona (MELLO et al., 2004). Somente o exercício de natação, promoveu a esperada redução significativa da concentração de colesterol na glândula adrenal.

O córtex da adrenal contém grandes quantidades de ácido ascórbico, que são depletadas quando a glândula é estimulada pelo ACTH. Contudo, é sabido que o ácido ascórbico tem ação antioxidante e que a esteroidogênese envolve várias sínteses redutivas (ROTTA, 2003). Apenas o exercício de natação desencadeou a resposta esperada com relação ao ácido ascórbico na glândula adrenal.

As razões pelas quais o aumento das concentrações circulantes de glicocorticóides é essencial para a resistência ao estresse permanecem, em grande parte, ainda desconhecidas. Uma hipótese seria que os glicocorticóides causam rápida mobilização de aminoácidos e gorduras de suas reservas celulares, tornando-se disponíveis tanto para fontes energéticas como para a síntese de outros compostos, incluindo a glicose, necessária para os tecidos do organismo (ANDERSEN et al., 2004).

Por isso, foram também analisadas as concentrações sanguíneas de glicose, AGL e lactato imediatamente após os dois tipos de exercício e em condição de repouso. Houve elevação nas concentrações sanguíneas desses três substratos em resposta ao exercício de natação em ambas as intensidades MFEL e 25% superior a esta, comparadas as concentrações de repouso. Para os animais submetidos ao exercício de corrida, houve apenas elevação nos níveis de lactato comparado ao grupo controle.

A ação mais bem conhecida dos glicocorticóides é sua capacidade de estimular a gliconeogênese pelo fígado, normalmente elevando-a de 6 a 10 vezes. Os glicocorticóides causam, também, decréscimo moderado na taxa de utilização de glicose pelas células em geral (MOSTL & PALME, 2002).

Embora a causa para essas reações não seja bem elucidada, acredita-se que em algum ponto entre a entrada da glicose nas células e sua degradação final, os glicocorticóides diretamente retardem o ritmo de utilização da glicose (SCHNEITER & TAPPI, 1998). Tanto o aumento na taxa de gliconeogênese quanto à moderada redução na taxa de utilização pelas células levou ao aumento das concentrações sanguíneas de glicose nos animais submetidos ao exercício de natação, grupo de animais que apresentou maior concentração de corticosterona.

Os glicocorticóides promovem mobilização de ácidos graxos do tecido adiposo, isso aumenta a concentração de ácidos graxos livres no plasma, o que também aumenta sua utilização para obtenção de energia (PIGNATELLI et al., 1998). Os glicocorticóides aparentemente também têm efeito direto em aumentar a oxidação de ácidos graxos pelas células. Os mecanismos pelas quais os glicocorticóides promovem a mobilização de ácidos graxos não são totalmente conhecidos. Contudo, parte desse efeito decorre da redução do transporte da glicose para o interior dos adipócitos. O  $\alpha$ -glicerofosfato, que

deriva do metabolismo da glicose, é necessário para a deposição e manutenção dos triglicérides nessas células (GUYTON & HALL, 2002).

Em relação ao lactato, a concentração sanguínea desse substrato durante o exercício depende do equilíbrio entre a velocidade de sua produção pelos músculos e a sua retirada (WASSERMAN et al., 1986). São diversos os fatores envolvidos no acúmulo de lactato durante o exercício. Um dos principais fatores é o aumento da intensidade do exercício, pois provoca maior participação da glicólise anaeróbia na produção de energia (McARDLE et al., 1985). A remoção do lactato durante o exercício deve-se, principalmente, à própria oxidação da musculatura esquelética e cardíaca e, em menos proporção à conversão em glicose (gliconeogênese) no fígado (FARRELL, 1979; DONOVAN & BROOKS, 1983; KATZ & SAHLIN, 1990), fenômeno acelerado pelos glicocorticóides.

Ao serem comparadas as respostas metabólicas nas duas intensidades (MFEL x 25% superior a esta) em ambos os exercícios, foram constatados aumentos nas concentrações de ACTH, corticosterona e lactato na intensidade 25% superior a MFEL no exercício natação. Somente o lactato sanguíneo elevou no exercício corrida, sendo maiores as concentrações na intensidade 25% superior a MFEL.

Além disso, glicose, AGL, corticosterona e ACTH séricos mostraram-se sempre mais elevados nos grupos submetidos à natação que nos demais. O inverso ocorreu com as concentrações de colesterol e ácido ascórbico na glândula adrenal. Em conjunto, esses resultados são indicadores de maior resposta ao estresse por parte dos grupos submetidos à natação em relação aos submetidos à corrida.

Segundo Soya (2001), a atividade do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal durante exercício agudo depende da intensidade deste, produzindo maior atividade em altas

intensidades. Em exercícios realizados por humanos com um consumo máximo de  $O_2$  maior que 60% do  $VO_{2\text{max}}$ , a secreção de ACTH e cortisol é proporcional a intensidade do exercício (HOWLETT, 1987). Levando-se em consideração esse aspecto, os resultados de ACTH e corticosterona do presente estudo mostram que a interação hipófise-adrenal no exercício é mais complexa, pois apesar da realização de exercício em intensidades semelhantes, as duas formas de atividade provocaram respostas distintas.

O bem estar do animal é de grande importância para o sucesso das pesquisas, e a ausência de estresse crônico é um pré-requisito para essa condição (MOSTL & PALME, 2002). Durante o estresse agudo, várias respostas endócrinas são acionadas visando melhorar o desempenho do animal. Os principais hormônios envolvidos no combate a situações estressantes são os glicocorticóides e as catecolaminas (TSIGOS & CHROUSOS, 2002). A ativação aguda desses sistemas hormonais provoca alterações que melhoram a capacidade do organismo para ajustar a homeostase, aumentando as chances de sobrevivência. Por outro lado, períodos prolongados de concentrações elevadas de corticosteróides, podem deteriorar a saúde do indivíduo (MOSTL & PALME, 2002).

Foram analisadas as respostas do eixo hipófise adrenal referentes às duas intensidades (MFEL e 25% superior a esta) em ambos exercícios (natação e corrida) realizados de forma aguda, em intensidades equivalentes e após adaptações prévias ao exercício. A maior atividade do eixo hipotálamo hipófise córtex da adrenal observado nos grupos submetido à sessão única de natação poderia oferecer condições mais adequadas para o desenvolvimento da atividade muscular prolongada. Essa hipótese parece ser corroborada pelos dados referentes a concentrações de glicogênio muscular

no presente estudo. Os grupos submetidos à natação mostraram maior preservação dos estoques de glicogênio do músculo sóleo (músculo oxidativo). Isso pode ser atribuído, pelo menos em parte, às elevadas concentrações circulantes de glicose e AGL, resultantes da ativação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal. Contudo, essa adaptação não evitou a queda da concentração do glicogênio do músculo gastrocnêmio (músculo glicolítico). Por outro lado, nos grupos submetidos à corrida, houve redução dos estoques de glicogênio do músculo sóleo, com preservação dos estoques no músculo gastrocnêmio. O conjunto dessas alterações pode comprometer a sustentação do exercício.

Contudo, não se pode esquecer que o exercício agudo foi realizado após duas semanas de adaptação ao exercício. Os resultados mostrando maior atividade do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal nos ratos submetidos à natação podem ser tomadas como indício de estresse crônico. Para uma abordagem mais completa dessa segunda hipótese, seria importante realizar o treinamento dos animais em ambos os tipos de exercício.

## 7 – CONCLUSÕES

- Através dos protocolos empregados, foi possível identificar a máxima fase estável de lactato durante exercícios de natação e corrida em esteira.
- Somente o exercício agudo de natação provocou as respostas endócrino/metabólicas esperadas ao estresse: elevações das concentrações séricas de ACTH e corticosterona, decréscimo nas concentrações de colesterol e ácido ascórbico na adrenal.
- A ativação desse sistema de estresse conduziu a alterações metabólicas como elevação das concentrações séricas de glicose, AGL e lactato nos animais que nadaram, em relação aos animais de repouso. Sendo mais pronunciadas nos animais que realizaram exercícios mais intensos. Essas alterações podem favorecer o desempenho no exercício.
- Por outro lado, essas respostas precisam ser vistas com cautela, pois foram obtidas em animais previamente adaptados ao exercício e podem ser indício de estresse crônico. Essa última condição pode, sabidamente comprometer o desempenho no exercício.
- Mais estudos são necessários para que se possa inferir com mais exatidão sobre a adaptação de ambos os tipos exercício (natação e corrida) para o treinamento físico de ratos.



## **8- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

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

ARAD, I.; SIDI, A.; SHOHAMI, E. Effect of acute hypoxia on ascorbate content of plasma, cerebral cortex, and adrenal gland. **J. Neurochem.** v.45, n.3, p.766-9, 1985.

AZEVEDO, J. R. M. **Determinação de parâmetros bioquímicos em ratos sedentários e treinados, durante e após exercício agudo de natação.** Campinas: UNICAMP, 1994. 139p. Tese (Doutorado em Ciências-Fisiológicas) - Departamento de Fisiologia e Biofísica da Univ. de Campinas, 1994.

BAKER, E. M.; SAARI, J. C.; TALBERT, B. M. Ascorbic acid metabolism in man. **Am. J. Clin. Nutr.** v.19, n.6, p.371-8, 1966.

BENEKE, R. Maximal lactate steady state concentration (MLSS): experimental and modelling approaches. **Eur. J. Appl. Physiol.** v.88, n.4-5, p.361-9, 2003.

BENNELL, K. L.; KHAN, K. M.; WARMINGTON, S.; FORWOOD, M. R.; COLEMAN, B. D.; BENNETT, M. B.; WARK, J. D. Age does not influence the bone response to treadmill exercise in female rats. **Med. Sci. Sports Exerc.** v.34, n.12, p.1958-65, 2002.

BERNE, R. M.; LEVY, M. N. **Sistema Endócrino**. In: \_\_\_\_\_. Fisiologia. 2ª ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara-Koogan. p.653-817, 1990.

BILLAT, V. I.; SIRVENT, P.; PY, G.; KORALSZTEIN, J. P.; MERCIER, J. The concept of maximal lactate steady state: a bridge between biochemistry, physiology, and sport science. **Sports Med.** v.33, n.6, p.407-26, 2003.

BILLAT, V. L.; MOUISEL, E.; ROBLLOT, N.; MELKI, J. Inter-and intrastain variation in mouse critical running speed. **J. Appl. Physiol.** v.98, n.4, p.1258-63, 2004.

CHENG, C-P.; SAYERS, G. Discharge of adrenocorticotrophic hormone from transplanted pituitary tissue. **Am. J. Physiol.** v.159, n.3, p.426-32, 1949.

CHENG, C-P.; SAYERS, G. Discharge of adrenocorticotrophic hormone in the absence of neural connections between the pituitary and hypothalamus. **Am. J. Physiol.** v.158, p.45-50, 1949.

DALLMAN, M. F. Stress update: adaptation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis to chronic stress. **Trends End. Metabol.** v.4, p.62-69, 1993.

DISHMAN, R. K. Introduction: exercise, brain and behavior. **Med. Sci. Sports Exerc.** v.29, n.1, p.37-8, 1997.

DISHMAN, R. K.; RENNER, K. J.; WHITE-WELKLEY, J. E.; BURKE, K. A.; BUNNELL, B. N. Treadmill exercise training augments brain norepinephrine response to familiar and novel stress. **Brain Res. Bull.** v.52, n.5, p.337-42, 2000.

DONOVAN, C. M.; BROOKS, G. A. Endurance training affects lactate clearance, not lactate production. **Am. J. Physiol.** v.244, n.5, p.83-92, 1983.

DUBOIS, B.; GILLES, K. A.; HAMILTON, J. K.; REBERS, P. A. Colorimetric method for determination of sugar and related substances. **Anal. Chem.** v.28, p.350-6, 1956.

FARRELL, P. A.; WILMORE, J. H.; COYLE, E. F.; BILLING, J. E.; COSTIL, D. L. Plasma lactate accumulation and distance running performance. **Med. Sci. Sports Exerc.** v.11, n.4, p.338-44, 1979.

FARRELL, P. A.; CASTON, A. L.; RODD, D; ENGDAHL, J. Effect of training on insulin secretion from single pancreatic beta cells. **Med. Sci. Sports Exerc.** v.24, n.4, p.426-33, 1992.

FILAIRE, E.; DUCHE, P.; LAC, G.; ROBERT, A. Saliva cortisol, physical exercise and training: influences of swimming and handball on cortisol concentrations in women. **J. Appl. Physiol.** v.74, n.3, p.274-8, 1996.

FOX, E. L.; MATHEUS, D. K. **Bases fisiológicas do exercício e do esporte.** Trad. G. Taranto. 6ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara-koogan, 1998.

GALBO, H. Hormonal and metabolic adaptations to exercise. **Thieme**, Stuttgart, 1993.

GARRET, Jr., W. E.; KIRKENDALL, D. T. **A ciência do exercício e do esporte.** Artmed. 531, 2003.

GOBATTO, C. A.; KOKUBUN, E.; SIBUYA, C. Y.; MELLO, M. A. R. Efeitos da desnutrição proteico-calórica e do treinamento físico na produção de ácido láctico em ratos machos adultos após teste de cargas progressivas. Resultados Preliminares. **Ciência e Cultura.** v.43, p.725-726, 1991.

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

GOBATTO, C. A.; SIBUYA, C. Y.; KOKUBUN, E.; LUCIANO, E.; AZEVEDO, J. R. M.; MELLO, M. A. R. Caracterização da Intensidade de Exercício e do Efeito do

Treinamento Físico no Modelo de Natação de Ratos Wistar. **Motriz**. v.7, n.1, pp.S57-S62, 2001b.

GUYTON & HALL. **Tratado de Fisiologia Médica**. 10ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara-koogan, 2002.

HARDIE, D. G. The first messengers – hormones, neurotransmitter and local mediators. In: \_\_\_\_\_. Biochemical Messenger: **Hormones, Neurotransmitters and Growth factors**. London: Chapman, p.21-43, 1992.

HECK, H.; MADER, A.; HESS, G.; MUCKE, S.; MULLER, R.; HOLLMANN, W. Justification of the 4-mmol/L lactate threshold. **Int. J. Sports Med**. v.16, n.3, p.117-30, 1985.

HENRY, R. J.; CANNON, D. C.; WINKEMAN, J. Clinical chemistry, principles and techniques. 2ª ed. New York: Haepel & Row Publishers Inc. p.1288, 1974.

HOWLETT, T. A. Hormonal responses to exercise and training: a short review. **Clin. Endocrinol**. v.26, n.6, p.723-42, 1987.

INDER, W. J.; HELLEMANS, J.; SWANNEY, M. P.; PRICKETT T. C.; DONALD, R. A. Prolonged exercise increases peripheral plasma ACTH, CRH and AVP in male athletes. **Med. Sci. Sports Exerc**. v.85, n.3, p.835-41, 1998.

KAWASHIMA, H.; SAITO, T.; YOSHIZATO, H.; FUJIKAWA, T.; SATO, Y.; McEWEN, B. S.; SOYA, H. Endurance treadmill training in rats alters CRH activity in the hypothalamic paraventricular nucleus at rest and during acute running according to its period. **Life Sci.** v.76, n.7, p.763-74, 2004.

KATZ, A.; SAHLIN, K. Role of oxygen in regulation of glycolysis and lactate production in human skeletal muscle. **Exerc. Sports Sci.** v.18, p.1-28, 1990.

KINDERMAN, N. W.; SIMON, G.; KEUL, J. The significance of the aerobic-anaerobic transition of the determination of work load intensities during endurance training. **Eur. J. Appl. Physiol. Occup. Physiol.** v.42, n.1, p.25-34, 1979.

KIRWAN, J. P.; del AGUILA, L. F.; HERNÁNDEZ, J. M.; WILLIAMSON, D. L.; O`GORMAN, D. J.; LEWIS, R.; KRISHMAN, R. K. Regular exercise enhances insulin activation of IRS-1 associated PI3-Kinase in human skeletal muscle. **J. Appl. Physiol.** v.88, n.2, p.797-803, 2000.

KOIVISTO, V. A.; SOMAN, V. R.; FELIQ, P. Effects acute exercise and training on insulin binding to monocytes and insulin sensitivity in vivo. **Acta. Paediatr. Scand. Suppl.** v.283, p.70-8, 1980.

LAMPMAN, R. M.; SCHTEINGART, D. E. Effects of exercise training on glucose control, lipid metabolism, and insulin sensitivity in hypertriglyceridemia and non-

insulin dependent diabetes mellitus. **Med. Sci. Sports Exerc.** v.23, n.6, p.703-712, 1991.

LAZARUS. R. S.; LAZARUS, B. N. **Passion and reason.** Nova York, Ox-ford University Press, 1994.

LIPP, M. E. N. **Pesquisa sobre estresse no Brasil: saúde, ocupações e grupos de risco.** Campinas, S.P.: Papyrus, 1996.

LUCIANO, E. **Influências do treinamento físico sobre o metabolismo de carboidratos em ratos diabéticos experimentais.** São Paulo: USP, 1991. 108 p. Tese (Doutorado em Ciências-Fisiológicas) – Instituto de Ciências Biomédicas da Univ. de São Paulo, 1991.

MADER, A.; HECK, H. A theory of the metabolic origin of “anaerobic/threshold”. **Int. J. Sports Med.** 7 Suppl. 1, p. 45-65, 1986.

MANCHADO, F. B.; GOBATTO, C. A.; CONTARTEZE, R. V. L.; PAPOTI, M.; MELLO, M. A. R. Maximal lactate steady state in running rats. **J. E. P. online.** v.8, p.29-35, 2005.

MAZZEO, R. S. Catecholamine response to acute and chronic exercise. **Med. Sci. Sports Exerc.** v.23, n.7, p.839-45,1991.

McARDLE, W. D.; KATCH, F. J.; KATCH, V. L. **Fisiologia do exercício: energia, nutrição e desempenho humano**. 1ª ed. Rio de Janeiro, Guanabara-Koogan, 1985.

MELLO, M. P.; PENACHIONI, J. Y.; AMARAL, F. C.; CASTRO, M. Deficiência da 11-Hidroxilase. **Arq. Bras. Endocrinol. Metab.** v.48, n.5, p.713-23, 2004.

MIDLIN, R. L.; BUTLER, A. M. The determination of ascorbic acid in plasma. A micromethod. **J. of Biol. Chem.** v.122, p.673-86, 1938.

MONOD, D.; SCHERRER, J. The work capacity of a synergic muscular group. **Ergonomics**. Basingstoke. v.8, p329-37, 1965.

MOSTL, E.; PALME, R. Hormones as indicators of stress. *Domestic Animal Endocrinology*. v.23, p.67-74, 2002.

NATELSON, B. H.; TAPP, W. N.; ADAMUS, J. E.; MITTLER, J. C.; LEVIN, B. E. Humoral indices of stress in rats. **Physiol. Behav.** v.26, n.6, p.1049-54, 1981.

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Lehninger princípios de bioquímica**. Trad. A. A. Simões. 3ª ed. São Paulo: Sarvier, 2002.

de OLIVEIRA, C. A.; SUCHECKI, D. COHEN, S.; D'ALMEIDA, V. Acute stressor-selective effect on total plasma homocysteine concentration in rats. **Pharmacol. Biochem. Behav.** v.77, p.269-73, 2004.



ORTH, D. N.; KOVACS, W. J.; DeBOLD, R. The adrenal cortex. In: WILSON, J. D.; FOSTER, D. W. **Williams textbook of Endocrinology**. 8 ed. Philadelphia: W. B. Saunders Company, p.489-620, 1992.

PARISKOVÁ, J. **Gordura corporal e aptidão física**. Rio de Janeiro: Guanabara, 289 p. 1982.

PFANZAGL, B. Ascorbate is particularly effective against LDL oxidation in the presence of iron (III) and homocysteine/cystine at acid pH. **Biochim. Biophys Acta**. v.1736, n.3, p.237-47, 2005.

PILIS, W.; ZARZECZNY, R.; LANGFORT, J.; KACIUBA-USCILKO, H.; NAZAR, K.; WOJTYNA, J. Anaerobic threshold in rats. **Comp. Biochem. Physiol. Comp. Physiol.** v.106, n.2, p. 285-9, 1993.

PIGNATELLI, D.; MAGALHAES, M. M.; MAGALHAES, M. C. Direct effects of stress on adrenocortical function. **Horm. Metab. Res.** v.30, n.6-7, p.464- 74, 1998.

PRADA, F. J. A.; VOLTARELLI, F. A.; de OLIVEIRA, C. A.; GOBATTO, C. A.; MELLO, M. A. R. Condicionamento anaeróbico e estresse oxidativo em ratos treinados por natação em intensidade equivalente ao limiar anaeróbico. **Revista Brasileira de Ciência e Movimento**. v.12, n.2, p.29-34, 2004.

REGGOW, B. J. M.; CORNELISSEM, P. J. H.; HELDER, R. A. P.; SPIJKERS, J. B. F.; WEEBER, Y. M. N. Specific determination of free fatty acid in plasma. **Clin. Chim. Acta.** v.31, p.187-95, 1971.

ROTTA, M. A. Utilização do ácido ascórbico (vitamina C) pelos peixes. **Embrapa Pantanal**, Corumbá, 2003.

SCHNEITER, P.; TAPPI, L. Kinetics of Dexamethasone-induced alterations of glucose metabolism in healthy human. **Am. J. Physiol.** v.275, n.5 pt 1, p.806-13, 1998.

SCRIBNER, K. A.; AKANA, S. F.; WALKER, C. D.; DALLMAN, M. F. Streptozotocin-diabetic rats exhibit facilitated adrenocorticotropin responses to acute stress, but normal sensitivity to feedback by corticosteroids. **Endocrinology.** v.133, n.6, p.2667-2674, 1993.

SELYE, H. The nature of stress. **Basal Facts.** v.7, p. 3-11, 1985.

SHERMAN, W. M.; FRIEDMAN, J. E.; GAO, J. -P. REED, M. J.; ELTON, C. W.; DOHM, G. L. Glicemia and exercise training alter glucose transport and GLUT- 4 in the Zucker rat. **Med. Sci. Sports Exerc.** v.25, n.3, p.341-348, 1992.

SJORGREEN, B.; NORDENKJOLD, T.; HOLMGREN, H.; WOLLERSTROM, J. Beitrag zur Kenntnis des leberhythmik. **Pfluegers Archiv fuer die Gesamte Physiologie des Menschen und der Tiere.** v.240, p. 247, 1958.

SMILIOS, I.; PILIANIDIS, T.; KARAMOUZIS, M.; TOKMAKIDIS, S. P. Hormonal responses after various resistance exercise protocols. **Med. Sci. Sports Exerc.** v.35, n.4, p.644-54, 2003.

SOTHMANN, M. S.; BUCKWORTH, J.; CLAYTOR, R. P.; COX, R. H.; WHITEWELKLEY, J. E. DISHMAN, R. K. Exercise training and cross-stressor adaptation hypothesis. **Exerc. Sports Sci. Rev.** v.24, p.267-87, 1996.

SOYA, H. Stress response to exercise and its hypothalamic regulation: possible role of arginine-vasopressin In: H. Nose, **Editors, Exercise, Nutrition and Environmental Stress**, I.L. Cooper, Traverse City. p. 21-37, 2001.

SPIELBERGER, C. **Understanding stress and anxiety**. Curaçau, Multimedia Publication Inc., 1979.

TEGTBUR, U; BUSSE, M. W.; BRAUMANN, K. M. Estimation of an individual equilibrium between lactate production and catabolism during exercise. **Med. Sci. Sports Exerc.** v.25, n.5, p.620-7, 1993.

TEPPERMAN, J. **Fisiologia Endócrina e Metabólica**. Guanabara-Koogan S.A. Rio de Janeiro, 271p. 1977.

TSIGOS, C.; CHROUSOS, G. P. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis, neuroendocrine factors and stress. **J. Psychosom. Res.** v.53, n.4, p.865-71, 2002.

TYNDALL, G. L.; KOBE, R. W.; HOUMARD, J. A. Cortisol, testosterone and insulin action during intense swimming training in humans. **J. Appl. Physiol.** v.73, n.1-2, p.61-5, 1996.

URHAUSEN, A.; GABRIEL, H.; KINDERMANN, W. Blood hormones as markers of training stress and overtraining. **Sports Med.** v.20, n.4, p.251-76, 1995.

VIRU, A. Plasma hormone and physical exercise. **Int. J. Sports Med.** v.13, n.3, p.201-9, 1992.

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

WASSERMAN, K.; VAN KESSEL, A. L.; BURTON, G. G. Interaction of physiological mechanisms during exercise. **J. Appl. Physiol.** v.22, n.1, p.71-85, 1967.

WASSERMAN, Z.; BEAWER, W. L.; WHIPP, B. J. Mechanisms and patterns at blood lactate increase during exercise in man. **Med. Sci. Sports Exerc.** v.18, n.3, p.44-352, 1986.

WRAY, C. J.; MAMMEN, J. M.; HASSELGREN, P-O. Catabolic response to stress and potential benefits of nutrition support. **Nutrition.** v.18, n.11-12, p.971-7, 2002.

## ABSTRACT

Many studies on metabolism and exercise are developed with animal models especially rats. Treadmill running and swimming are among the exercises most used in researches involving animals. However, doubts on which would be the most suitable exercise to unchain more responses to exercise and less responses associated to other stresses still remain. The activity of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis composed of ACTH and corticosterone hormones are important stress biomarkers. Therefore, the objective of the present study was to compare stress biomarkers during known-intensity swimming and treadmill running exercises performed by rats. Wistar adult rats previously adapted to exercises and with their maximum lactate steady state (MLSS) determined were used. To do this, rats were submitted to 3 swimming tests with 25 minutes of duration (n=18) with loads of 5.0; 5.5 and 6.0% of their body weight (BW) or to 3 running sessions with 25 minutes of duration (n=13) at velocities of 15; 20 and 25 m/min. Blood samples were collected from the tip tail of rats each 5 minutes of exercise for lactate dosage. After MLSS attainment, the animals were divided into the following subgroups: (M) sacrificed shortly after session of 25 minutes of exercise (swimming=09 or treadmill=07) at the MLSS intensity or (S) sacrificed after exhaustive exercise (swimming=09 or treadmill=06) at intensity 25% above MLSS. For comparison purposes, a control group C (n=10) was sacrificed in rest. The Two-Way ANOVA was used in order to identify possible differences in the stress parameters (P<0.05). The following results were obtained: MLSS: swimming 5.5% of the BW and treadmill running at 20 m/min at blood lactate concentrations (mmol/L) of  $5.2\pm 0.3$  in swimming and of  $3.8\pm 0.1$  in running. Serum ACTH concentrations (pg/mL) were significantly higher for the swimming group ( $963.3\pm 420.4$ ) when compared to the running ( $348.7\pm 60.9$ ) and control ( $179.3\pm 46.3$ ) groups, while the serum corticosterone concentrations (ng/mL) in swimming ( $2661.2\pm 627.8$ ) and running ( $1802.7\pm 700.4$ ) groups were significantly higher in relation to the control group ( $467.11\pm 262.12$ ). The swimming group presented higher concentrations for both hormones in relation to the running group. At intensity 25% above MLSS: serum ACTH concentrations (pg/mL) were significantly higher for swimming group ( $1284.4\pm 361.3$ ) when compared to running ( $372.3\pm 145.8$ ) and control ( $179.3\pm 46.3$ ) groups, while serum corticosterone concentrations (ng/mL) for swimming ( $3845.5\pm 788.8$ ) and running ( $2027.9\pm 724.9$ ) groups were significantly higher than values presented by the control group ( $467.1\pm 262.1$ ). The swimming group presented higher concentrations of both hormones when compared to the running group. These results allow us concluding that only acute swimming exercise induced endocrine/metabolic responses expected to stress: elevations on the serum ACTH and corticosterone concentrations, being more pronounced at the highest intensity (25% above MLSS).