

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
INSTITUTO DE BIOLOGIA



Larissa da Silva Briet

EFEITO DO TREINAMENTO FÍSICO DIÁRIO DE ALTA
INTENSIDADE POR SALTO EM ÁGUA COM
SOBRECARGA SOBRE PARÂMETROS METABÓLICOS,
BIOQUÍMICOS E MORFOLÓGICOS DE RATOS.

Este exemplar corresponde à redação final
da tese defendida pelo(a) candidato (a)
LARISSA DA SILVA BRIET
Fernanda Klein Marcondes
e aprovada pela Comissão Julgadora.

Dissertação apresentada ao
Instituto de Biologia, da
Universidade Estadual de
Campinas, para obtenção do
Título de Mestre em Biologia
Funcional e Molecular, Área de
Concentração em Fisiologia.

Orientadora: Profa. Dra. Fernanda Klein Marcondes
Co-Orientadora: Profa. Dra. Tatiana de Sousa da Cunha

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA POR
ROBERTA CRISTINA DAL' EVEDOVE TARTAROTTI – CRB8/7430
BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE BIOLOGIA - UNICAMP

B767e

Briet, Larissa da Silva, 1985-

Efeito do treinamento físico diário de alta intensidade, por salto em água com sobrecarga sobre parâmetros metabólicos, bioquímicos e morfológicos de ratos / Larissa da Silva Briet. – Campinas, SP: [s.n.], 2011.

Orientadores: Fernanda Klein Marcondes, Tatiana de Sousa da Cunha.

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Biologia.

1. Treinamento resistido. 2. Lactatos. 3. Fibras musculares. 4. Creatina quinase. 5. Isoformas de proteínas. I. Marcondes, Fernanda Klein. II. Cunha, Tatiana de Sousa da. III. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Biologia. IV. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em Inglês: Effect of daily high-intensity physical training, by jump into water carrying an overload, on metabolic, biochemical and morphological parameters of rats

Palavras-chave em Inglês:

Resistance training

Lactates

Muscle fibers

Creatine kinase

Protein isoforms

Área de concentração: Fisiologia

Titulação: Mestre em Biologia Funcional e Molecular

Banca examinadora:

Fernanda Klein Marcondes [Orientador]

Claudio Alexandre Gobatto

Sérgio Eduardo de Andrade Perez


Data da defesa: 04-11-2011

Programa de Pós Graduação: Biologia Funcional e Molecular

Campinas, 04 de novembro de 2011

BANCA EXAMINADORA

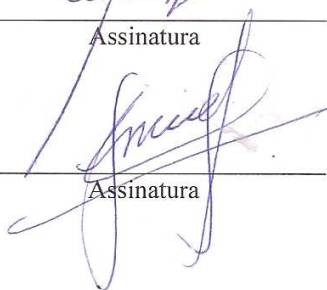
Profa. Dra. Fernanda Klein Marcondes (orientadora)


Assinatura

Prof. Dr. Claudio Alexandre Gobatto


Assinatura

Prof. Dr. Sérgio Eduardo de Andrade Perez


Assinatura

Profa. Dra. Denise Vaz de Macedo

Assinatura

Profa. Dra. Ana Paula Tanno

Assinatura

“Eu acredito que o ponto alto na vida de um homem, a sua maior realização, é aquele momento em que ele deu o sangue por uma boa causa e está no campo de batalha, caído, exausto... Vitorioso.”

Vince Lombardi

AGRADECIMENTOS

A Deus, sobretudo, por tudo! “Porque dEle e por Ele, e para Ele, são todas as coisas!” (Romanos 11:36).

A minha mãe, Silma, pelo exemplo de vida e luta pelos sonhos e ideais, pelo amor incondicional e por me apoiar também nas minhas escolhas acadêmicas.

A minha irmã, Lerrine, exemplo de sabedoria e fé. Mesmo distante... sempre presente!!!

Aos amigos, que tornaram os momentos difíceis desta etapa mais suportáveis, e aos momentos felizes deram significado! Em especial aos amigos do Laboratório de Estresse da FOP/UNICAMP: Patrícia, Bruna, Andréia, Mariana, Eduardo, Vander, Gabriela e Francine. E mais especialmente ainda a Rafaela e Vinícius (Bino), pois muitas vezes foram meu braço direito e em momentos de “fadiga neuronal” foram também meu cérebro! Como seria possível sem vocês?

A minha orientadora, Profa. Dra. Fernanda Klein Marcondes, por me dar a oportunidade de realizar meu mestrado em seu laboratório, pela paciência e sabedoria com que conduziu essa pesquisa. “Feliz aquele que transfere o que sabe e aprende o que ensina” (Cora Coralina).

A minha co-orientadora, Profa. Dra. Tatiana de Sousa da Cunha, que mesmo fisicamente distante, sempre se fez intelectualmente presente durante toda a pesquisa. Seus conhecimentos e sugestões foram e continuarão sendo extremamente importantes para mim!

Aos funcionários da FOP e do IB, em especial as secretárias Eliete e Andréia e ao técnico de laboratório Feliciano, pela ajuda em questões burocráticas e práticas de laboratórios, respectivamente.

A CAPES e a FAPESP, pelo auxílio financeiro para o desenvolvimento deste trabalho.

RESUMO

O modelo de natação associado à sobrecarga de peso é um modelo experimental de treinamento físico, mas o desconhecimento da intensidade de esforço que esta sobrecarga representa tem dificultado a padronização de protocolos de condicionamento físico para animais de laboratório. Além disso, pouco se sabe a respeito das respostas musculares e o estresse que pode estar associado à realização deste tipo de treinamento. O objetivo deste estudo foi avaliar, em ratos, os efeitos do treinamento físico diário de alta intensidade, por saltos em água com sobrecarga, na evolução temporal da concentração sanguínea de lactato; na concentração plasmática de corticosterona; na atividade sérica da creatina quinase (CK); na área de secção transversa da fibra muscular (ASTFM) do músculo sóleo e extensor longo dos dedos (EDL); e na expressão das isoformas da cadeia pesada de miosina (MHC) do músculo sóleo. Ratos Wistar machos foram aleatoriamente divididos em dois grupos: treinado e não treinado, e cada grupo foi composto por cinco subgrupos, que correspondiam a cada semana de treinamento. Os animais treinados foram submetidos a 5 semanas de treinamento que consistiu em 4 séries, 10 repetições, 30 segundos de repouso entre as séries, sobrecarga de 50-70% do peso corporal (PC), 5 dias/semana. No final de cada semana, a concentração sanguínea de lactato foi determinada antes, imediatamente após, 20, 40 e 60 minutos após o exercício. O treinamento aumentou a concentração sanguínea de lactato, em relação ao repouso, nas cinco semanas (semana 1=7.2±0.4 vs 2.2±0.3; semana 2=8.1±0.5 vs 2.1±0.1; semana 3=7.9±0.6 vs 2.0±0.2; semana 4=8.2±0.3 vs 1.9±0.1; semana 5=7.7±0.5 vs 1.5±0.1 mmol/L). Os animais treinados apresentaram aumento da concentração plasmática da corticosterona (semana 1=11.4±3.2 vs 3.2±2.1; semana 3=13.0±3.5 vs 2.1±0.9; semana 5=22.6±4.8 vs 6.4±3.2 ng/mL) e diminuição da atividade sérica da CK (semana 1=3191±310 vs 4187±414; semana 3=2828±247 vs 3680±643; semana 5=3330±225 vs 4254±602 U/L) em todas as semanas em relação aos animais não treinados. O treinamento diminuiu o PC (semana 3=297±7 vs 371±9; semana 5=365±13 vs 401±16 g), a razão peso muscular/PC dos músculos sóleo (semana 3=0.35±0.02 vs 0.57±0.03; semana 5=0.50±0.03 vs 0.61±0.04 g/100g) e EDL (semana 3=0.43±0.02 vs 0.66±0.03; semana 5=0.53±0.02 vs 0.67±0.05 g/100g), e a ASTFM do músculo sóleo (semana 3=2362±144 vs 3031±132; semana 5=2385±104 vs 2918±128 μm^2) a partir da terceira semana em comparação com animais não treinados. Os animais

treinados apresentaram diminuição da MHCI (90.3 ± 1.8 vs $99.2 \pm 0.80\%$) e aumento da MHCII (9.8 ± 1.8 vs $0.8 \pm 0.8\%$) no músculo sóleo na quinta semana em comparação com animais não treinados. Os resultados obtidos mostraram que o protocolo de treinamento por saltos em água com sobrecarga empregado é predominantemente anaeróbio, e que a realização deste treinamento, diariamente, sem respeitar o intervalo de recuperação entre as sessões, não promove hipertrofia muscular e constitui-se num estímulo estressor para os animais. Porém, apesar destes efeitos, o treinamento promoveu adaptações no que diz respeito às respostas de lesão muscular (CK) e ao delineamento dos tipos de fibras musculares (MHC), permitindo maior capacidade do músculo em suportar o aumento da carga durante as sessões de treinamento.

Palavras-chave: treinamento físico de alta intensidade, lactato, área da fibra muscular, CK, isoformas da MHC, sóleo, EDL, ratos.

ABSTRACT

The swimming model associated with weight lift is an experimental model of physical training, but the lack of knowledge about the intensity of this effort difficults the standardization of fitness protocols for laboratory animals. Furthermore, little is known about muscular responses and stress that may be associated with it. The aim of this study was to evaluate, in rats, the effect of jump training into water, carrying an overload, performed daily, on time-course of blood lactate concentration; plasma corticosterone concentration; serum creatine kinase (CK) activity; cross-sectional area of muscle fiber (CSAMF) of soleus and extensor digitorum longus (EDL) muscles; and expression of myosin heavy chain (MHC) isoforms on soleus muscle. Male Wistar rats were randomly divided into two groups: trained and untrained, with five subgroups each one, corresponding to each week of training protocol. Trained animals were submitted for 5 weeks of training that consisted in 4 sets, 10 repetitions, 30 seconds of rest between the sets, 50-70% body weight-load, 5 days/week. At the end of each week, blood lactate concentration was determined before, immediately after, 20, 40 and 60 minutes after exercise training. Physical training increased blood lactate concentration as compared with resting period, in all five weeks (week 1=7.2±0.4 vs 2.2±0.3; week 2=8.1±0.5 vs 2.1±0.1; week 3=7.9±0.6 vs 2.0±0.2; week 4=8.2±0.3 vs 1.9±0.1; week 5=7.7±0.5 vs 1.5±0.1 mmol/L). Corticosterone levels were increased in trained group (week 1=11.4±3.2 vs 3.2±2.1; week 3=13.0±3.5 vs 2.1±0.9; week 5=22.6±4.8 vs 6.4±3.2 ng/mL), and CK activity was decreased (week 1=3191±310 vs 4187±414; week 3=2828±247 vs 3680±643; week 5=3330±225 vs 4254±602 U/L) in all weeks as compared with untrained animals. Physical training decreased body weight (week 3=297±7 vs 371±9; week 5=365±13 vs 401±16 g), muscle weight/body weight ratio of soleus (week 3=0.35±0.02 vs 0.57±0.03; week 5=0.50±0.03 vs 0.61±0.04 g/100g) and EDL muscles (week 3=0.43±0.02 vs 0.66±0.03; week 5=0.53±0.02 vs 0.67±0.05 g/100g), and CSAMF of soleus muscle (week 3=2362±144 vs 3031±132; week 5=2385±104 vs 2918±128 μm^2) on the third and fifth weeks in comparison with untrained groups. Trained animals presented lower MHCI (90.3±1.8 vs 99.2±0.80%) and higher MHCII content (9.8±1.8 vs 0.8± 0.8%) in soleus muscle in the fifth week in comparison to untrained ones. Data showed that the jump

training into water, carrying an overload is predominantly anaerobic, and when it is performed daily, without recovery intervals between sessions, there is no muscle hypertrophy and it constitutes a stressor stimulus for animals. However, despite these effects, training protocol promoted adaptations regarding muscle damage (CK) and also muscle fiber type transitions (MHC), increasing muscle ability to support overload increases during training sessions.

Keywords: high intensity physical training, lactate, muscle fiber area, CK, MHC isoforms, soleus, EDL, rats.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	01
2. OBJETIVOS.....	07
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	08
4. RESULTADOS.....	14
5. DISCUSSÃO.....	22
6. CONCLUSÃO.....	34
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	35
ANEXOS.....	45

1. INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, a prática de exercício físico para a promoção da saúde e também com finalidades estéticas tem sido evidenciada (Oliva *et al.*, 1998). O treinamento resistido tem sido muito utilizado para melhorar a força máxima e a potência muscular no indivíduo que o pratica (Clebis & Natali, 2001; Lamas *et al.*, 2007). O treinamento resistido envolve a ativação do músculo esquelético contra uma resistência externa, a qual pode ser fornecida pela própria massa corporal, pesos livres ou máquinas específicas (Winett & Carpinelli, 2001). Existem dois tipos diferentes de treinamento resistido: o treino de força (TF) e o de potência (TP) (Katula *et al.*, 2008).

A recomendação para o desenvolvimento de força máxima preconiza a utilização de intensidades próximas do máximo, entre 70-80% de uma repetição máxima (1 RM), e baixa velocidade na execução do movimento. Por outro lado, intensidades mais baixas, entre 30-60% de 1 RM e alta velocidade na realização do movimento, são geralmente utilizadas para o desenvolvimento da potência muscular (Kraemer & Ratamess, 2004; Tschopp *et al.*, 2011). Portanto, programas de TP são frequentemente caracterizados por apresentarem menor volume e tempo em que o músculo fica sob tensão, em comparação com programas de TF (Leal *et al.*, 2011). Por esta razão, acredita-se que o estímulo no TP seja insuficiente para gerar uma resposta hipertrófica no músculo envolvido no exercício (Kyrolainen *et al.*, 2005). Entretanto, esta hipótese e as recomendações de treinamento supracitadas têm sido questionadas, visto que a literatura apresenta evidências de eficiência semelhante no aumento da potência muscular e da força máxima após um período de treinamento com protocolos de TF e TP (Lamas *et al.*, 2007).

Com o objetivo de acelerar o ganho de massa muscular proporcionado pela realização do treinamento resistido, alguns praticantes deste tipo de exercício comumente associam ao mesmo o uso de esteróides anabólicos androgênicos (EAA) (Iriart & Andrade, 2002; Evans, 2004). Os EAA são substâncias sintéticas formadas a partir da testosterona ou de um dos seus derivados (Thein *et al.*, 1995). A utilização dos mesmos, sem fins terapêuticos, iniciou-se entre levantadores de peso e outros atletas que realizavam treinamento de força, com o objetivo de aumentar a massa muscular e perder gordura corporal (American Academy of Pediatrics, 1997). Atualmente, o uso dessas substâncias tem atingido outras

populações, como atletas recreacionais, a fim de melhorar a aparência física ou a performance atlética; mulheres, que os utilizam para fins estéticos; e até adolescentes, que também buscam aumento da força, melhora da performance atlética ou da aparência física (Irving *et al.*, 2002; Fortunato *et al.*, 2007).

Apesar desse tipo de exercício ser facilmente aplicável em humanos, existem limitações éticas para a pesquisa devido a natureza invasiva das biópsias musculares, necessárias para obtenção das amostras (Cunha *et al.*, 2006). Além disso, é difícil a determinação das respostas fenotípicas decorrentes deste tipo de treinamento, visto que as fibras musculares apresentam um perfil bastante heterogêneo nas diferentes regiões do músculo. Desta forma, uma pequena amostra do músculo pode não refletir precisamente a resposta muscular total (Aguiar *et al.*, 2010).

Neste contexto, para melhor compreensão dos efeitos da associação entre o treinamento resistido e EAA, alguns modelos animais tem sido utilizados por diferentes grupos de pesquisa. A natação é um modelo de exercício físico bastante empregado em experimentos envolvendo ratos de laboratório, pois além de ser uma habilidade inata a ratos, é menos estressante do que os protocolos de corrida em esteira, nos quais os animais são expostos a choques elétricos como forma de estímulo para correrem (Cavalcante *et al.*, 2004). Para tornar o exercício de natação mais intenso e, ao mesmo tempo evitar que o animal flutue, pode-se utilizar uma sobrecarga de peso acoplada ao tórax ou à cauda dos animais enquanto nadam (Pereira *et al.*, 1994, Tassi *et al.*, 1998, Galdino *et al.*, 2000). O protocolo de exercício físico de alta intensidade por salto em água com sobrecarga para ratos descrito por Rogatto (2001a) e adaptado por Cunha *et al.* (2005a) busca simular a situação de usuários de altas doses de EAA que realizam exercício físico, sem respeitar sua capacidade individual e as orientações ou o acompanhamento de profissional habilitado.

Considerando que este protocolo induz alterações vasculares (Cunha *et al.* 2005b; Guzzoni, 2011), e cardíacas (Tanno, 2007) que permitem evidenciar os efeitos negativos de sua associação ao tratamento com EAA, é importante avaliar a intensidade de esforço que a sobrecarga representa, bem como algumas respostas musculares decorrentes da realização deste tipo de treinamento, para melhor padronização deste protocolo experimental.

Um parâmetro comumente utilizado para a identificação e definição da intensidade do esforço é a concentração de lactato sanguíneo (Gobatto *et al.*, 2001a). Diferentemente do

metabolismo aeróbio, a estimativa do metabolismo anaeróbio é de difícil realização, sobretudo pela limitação de se acessar os marcadores fisiológicos que melhor o representem (Bertuzzi et al., 2009). Neste sentido, o lactato sanguíneo tem sido comumente utilizado como marcador do metabolismo anaeróbio durante e após o exercício físico (Beneke *et al.*, 2000). Em humanos, a análise do “limiar anaeróbio” (LA), o qual corresponde ao aumento desproporcional na concentração do lactato sanguíneo em resposta ao exercício progressivo, tem sido utilizada para prescrição de treinamento físico, por meio de protocolos de avaliação padronizados (Simões *et al.*, 1998; Caputo *et al.*, 2002). Entretanto, o desenvolvimento de protocolos de determinação do LA em animais de laboratório é raro e tal carência compromete, além da aplicação mais adequada dos princípios do treinamento físico para ratos, o conhecimento da cinética do lactato durante o exercício em protocolos experimentais (Gobatto *et al.*, 2001a).

Em um dos únicos trabalhos presentes na literatura em que se avalia em ratos a concentração sanguínea do lactato, frente ao exercício de natação com sobrecarga, Gobatto *et al.* (2001b) determinaram que o limiar anaeróbio para tais animais, em exercício de natação ocorre com cargas entre 5 e 6% do peso corporal (PC) do animal, e que ele está em torno de 5,5 mmol/L. Um estudo desenvolvido por nosso grupo de pesquisa demonstrou que, após sessão única de exercício de natação para ratos com sobrecarga de 50% do peso corporal, a concentração sanguínea do lactato atinge valores superiores a 8 mmol/L (Tanno *et al.*, 2006). Entretanto, não se sabe se resposta semelhante pode ser obtida ao longo de um período de treinamento. Desse modo, se forem encontradas concentrações sanguíneas de lactato maiores que 5,5 mmol/L, em resposta ao protocolo físico empregado, poderemos classificá-lo como um exercício predominantemente anaeróbio.

Além do lactato sanguíneo, a concentração sérica de enzimas presente no interior de células musculares também é um indicador da condição funcional deste tecido (Antunes Neto *et al.*, 2008). A concentração sérica destas enzimas mostra-se elevada em indivíduos sedentários, condicionados e também em atletas, após exercício extenuante (Brancaccio *et al.*, 2007), e podem indicar a ocorrência de necrose celular e danos teciduais decorrentes de injúrias musculares agudas ou crônicas. Exercícios resistidos, como o levantamento de peso, estimulam o processo de hipertrofia e são, comumente, associados a danos musculares e aumento nos níveis séricos da creatina quinase (CK) (Paul *et al.*, 1989;

Bourgeois *et al.*, 1999). A CK apresenta pelos menos cinco isoformas, das quais uma é encontrada em grande concentração no músculo esquelético (CK-MM). A CK-MM catalisa a troca reversível de fosfato de alta energia entre a fosfocreatina, um substrato energético encontrado no músculo esquelético, e o ADP produzido durante a contração, e modula a razão intracelular entre as concentrações celulares de ATP e ADP, sendo portanto, muito importante na regeneração de ATP em locais de alto consumo de energia (Schneider *et al.*, 1995).

O nível total de CK depende de fatores, como: idade, sexo, raça, massa muscular, atividade física e condições climáticas. Com relação à atividade física, os atletas apresentam níveis de CK mais altos, no repouso, em comparação com pessoas sedentárias, provavelmente por causa de sua maior massa muscular e da realização de treinamento diário. Por outro lado, no período pós-exercício, o pico de atividade sérica é menor em atletas devido à adaptação ao treinamento (Brancaccio *et al.*, 2007).

Além das respostas metabólicas e bioquímicas, o treinamento físico induz adaptações morfológicas no tecido muscular. Neste sentido, uma característica única do músculo esquelético é a sua capacidade de alterar seu perfil fenotípico em resposta a um estímulo específico (Pette & Staron, 2001). Em resposta ao treinamento físico de alta intensidade ocorre um aumento na área de secção transversa do músculo esquelético, fato denominado de hipertrofia muscular (Costa *et al.*, 2007). O desenvolvimento muscular, em resposta ao exercício, envolve um complexo de células que induzem sinais para a síntese de proteínas miofibrilares e outros processos críticos relacionados com o remodelamento muscular (McClung *et al.*, 2005). As fibras musculares esqueléticas são multinucleadas e a hipertrofia é decorrente do aumento no número de mionúcleos, mantendo constante o domínio mionuclear, ou seja, a relação mionúcleos/volume citoplasmático. A principal fonte de novos mionúcleos é proveniente da ativação, proliferação e da incorporação de células-satélite ao músculo correspondente. Sabe-se que, após lesões musculares, as quais podem ser decorrentes de exercício físico extenuante, as células-satélite são estimuladas e proliferam-se. Estas fornecerão mionúcleos adicionais com o objetivo de restabelecer o domínio mionuclear (Tamaki *et al.*, 2001; Cunha *et al.*, 2004).

Por outro lado, quando o exercício é realizado diariamente esta resposta hipertrófica pode ficar comprometida, provavelmente por causa da ausência de períodos de repouso

entre as sessões, o que prejudica a recuperação e o desenvolvimento muscular (Pereira *et al.*, 2009). Por esse motivo faz-se necessária também a avaliação da ocorrência ou não da hipertrofia muscular por meio da análise da área de secção transversa da fibra muscular (ASTFM) de músculos envolvidos no exercício.

Uma outra forma de se avaliar a resposta adaptativa do músculo esquelético ao exercício, além da análise da hipertrofia muscular, é por meio da mudança na distribuição do tipo de fibra (D'Antona *et al.*, 2006). O componente contrátil das fibras musculares esqueléticas é formado por sarcômeros, nos quais predominam dois filamentos protéicos: um filamento fino, formado pelo complexo troponina, tropomiosina e actina; e um filamento grosso, formado pelas cadeias de miosina. A interação entre esses dois filamentos é responsável pela contração muscular, cuja velocidade está correlacionada com o tipo de isoforma de miosina expressa (Talmadge *et al.*, 1993).

De acordo com a velocidade de hidrólise do ATP, as fibras musculares são classificadas como lentas ou rápidas, e cada uma expressa uma determinada isoforma de miosina (Schiaffino & Reggiani, 1994). A isoforma lenta é denominada Cadeia Pesada de Miosina I (*Myosin Heavy Chain* ou MHCI) e as rápidas são denominadas MHCIIa, MHCIIId/x, MHCIIb (Pette & Staron, 2001). As isoformas de MHC parecem representar atualmente o marcador mais apropriado de delineamento dos tipos de fibras (Spangenburg & Booth, 2003), sendo que as fibras do tipo I, IIA, IID/IIx e IIB expressam isoformas de miosina dos tipos MHCI, MHCIIa, MHCIIId/x, MHCIIb, respectivamente (Dal Pai Silva & Carvalho, 2007).

O exercício tem um importante impacto na distribuição das isoformas de MHC e na transição do tipo de fibra muscular. A mudança na composição das isoformas de MHC induzida pelo exercício parece variar de acordo com o tipo de exercício (Liu *et al.*, 2003). Com relação às respostas ao treinamento resistido, Liu *et al.* (2003) observaram que após exercício diário de levantamento de peso de alta intensidade (carga entre 55-75% de 1 RM - repetição máxima) realizado em aparelho *leg press*, houve aumento no conteúdo de MHCIIA com concomitante diminuição do conteúdo de MHCI, no músculo vasto lateral de homens. Já Campos *et al.* (2002) relataram aumento no conteúdo de MHCIIA e diminuição

no conteúdo de MHCIB no músculo vasto lateral de homens, em resposta a um protocolo de treinamento físico de força de alta intensidade realizado em dias alternados e composto por exercício de levantamento de peso em aparelho *leg press*, agachamento e extensão do joelho. Em um dos únicos trabalhos que avaliam, em ratos, a mudança na composição das isoformas de MHC induzida por este tipo de exercício, Aguiar *et al.* (2010) observaram aumento de MHCII e diminuição de MHCI no músculo sóleo, decorrente da aplicação do protocolo diário de treinamento físico de alta intensidade por salto em água com sobrecarga de peso variando entre 50-70% do peso corporal (PC) do animal.

Além das adaptações metabólicas, bioquímicas e morfológicas, outro ponto que deve ser levado em consideração na aplicação de um protocolo de treinamento físico é o estresse que pode estar associado a ele. No caso do presente estudo, pelo fato do protocolo de treinamento ter sido realizado num meio líquido e ter envolvido a utilização de altas cargas, e dessa forma ter forçado o animal a saltar para respirar, acredita-se que tal protocolo seja muito estressante para o animal, aumentando a liberação de glicocorticóides nos mesmos. Visto que a corticosterona é o principal glicocorticóide secretado por roedores e, juntamente com as catecolaminas, são indicadores bioquímicos da reação de estresse, é importante avaliar a concentração plasmática de corticosterona no protocolo de treinamento de alta intensidade por salto em água, a fim de identificar o nível de estresse a que os animais são submetidos.

Enquanto as respostas decorrentes da aplicação de protocolos de treinamento aeróbico em ratos são bem conhecidas, há carência no conhecimento dos efeitos gerados pela realização de treinamento resistido para tais animais. Além disso, pelo fato do protocolo de treinamento usado no presente estudo induzir importantes alterações no organismo, o estudo das respostas adaptativas frente à realização deste tipo de exercício é essencial, pois representa uma importante abordagem experimental para o estudo dos efeitos deste tipo de treinamento sob as mais diversas condições experimentais. Portanto, o objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos da prática diária de um protocolo de treinamento físico de alta intensidade para ratos, o qual busca simular o tipo de treinamento físico realizado por usuários de EAA que realizam exercício físico sem respeitar sua capacidade individual e as orientações ou o acompanhamento de profissional habilitado.

2. OBJETIVOS

Avaliar, em ratos, a influência da prática diária de treinamento físico de alta intensidade, por saltos em água com sobrecarga (50-70% do PC) sobre:

- a evolução temporal das concentrações sanguíneas de lactato;
- a atividade sérica da CK;
- a concentração plasmática de corticosterona;
- o peso e a ASTFM dos músculos sóleo e EDL;
- a expressão das isoformas de MHC no músculo sóleo.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Animais

Foram utilizados ratos Wistar com 2 meses de idade, de padrão SPF (*Specific Patogen Free*), fornecidos pelo Centro Multidisciplinar de Investigação Biológica da UNICAMP (CEMIB). Os animais foram mantidos no Biotério da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, alojados em gaiolas coletivas, com 4 animais, no máximo, em sala climatizada (22 ± 2 °C) e com ciclo claro/escuro de 12/12 h (luzes acendendo às 6:00 h). Receberam, durante todo o período, água e ração para ratos à vontade, em ambiente sanitariamente controlado. Todos os procedimentos utilizados neste projeto foram aprovados pela Comissão de Ética em Experimentação Animal da Universidade Estadual de Campinas (Protocolo CEEA nº 944-1) (Anexo), de acordo com as normas do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA).

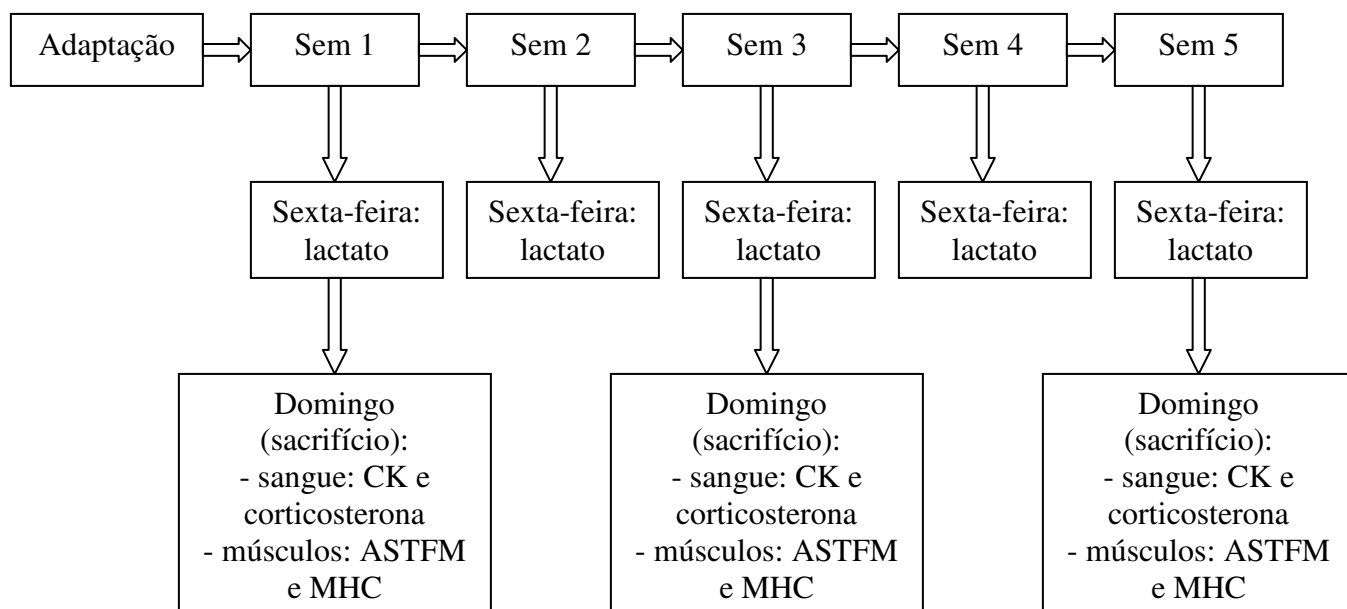
3.2. Delineamento Experimental

Os animais foram aleatoriamente divididos em dois grupos experimentais: não treinado e treinado, sendo cada grupo subdividido em 5 subgrupos, correspondentes a cada semana de treinamento. Os animais do grupo não treinado foram mantidos no biotério de experimentação e receberam somente os cuidados referentes à alimentação e higiene durante o período experimental. Os animais do grupo treinado foram submetidos a uma semana de adaptação ao meio líquido e ao treinamento físico (com número crescente de séries e saltos). Posteriormente, os animais foram submetidos (grupo treinado) ou não (grupo não treinado) a 5 semanas de treinamento físico resistido de alta intensidade, sendo que o subgrupo correspondente a semana 1 foi submetido a apenas uma semana do protocolo, o subgrupo correspondente a semana 2 foi submetido a duas semanas de protocolo, e assim sucessivamente até a semana 5.

Os animais foram pesados duas vezes por semana para acompanhamento do peso corporal (segundas-feiras) e determinação da carga de treinamento (segundas e quintas-feiras). Ao final de cada semana foi coletada amostra de sangue dos animais, correspondentes à tal semana do grupo treinado, para a avaliação da influência do treinamento físico sobre a concentração sanguínea de lactato.

Quarenta e oito horas após a última sessão de treinamento, os animais que representavam tal semana foram mortos por decapitação, o sangue foi coletado para dosagem de corticosterona e determinação da atividade sérica da CK. Os músculos sóleo e EDL foram retirados para análise da ASTFM em ambos, e para análise da expressão das isoformas da MHC no músculo sóleo. As análises realizadas 48 horas após a última sessão de treinamento foram realizadas apenas nas semanas 1, 3 e 5. O resumo destes procedimentos pode ser observado na figura abaixo:

A) Grupo Treinado:



B) Grupo Não Treinado:

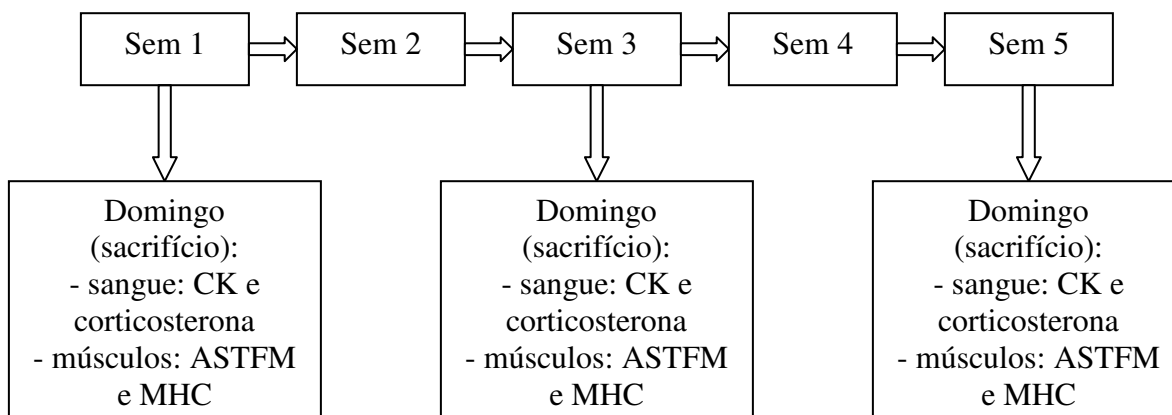


Figura 1. Protocolo experimental utilizado para o tratamento de ratos submetidos (A) ou não (B) ao treinamento físico de salto em água com sobrecarga. Sem = semana, CK = creatina quinase, ASTFM = área de secção transversa da fibra muscular e MHC = *Myosin Heavy Chain*.

3.3. Treinamento Físico Resistido

Os animais foram submetidos individualmente a sessões de saltos em um cilindro de PVC, contendo água a 30°C a uma profundidade de 38 cm. Após uma semana de adaptação ao meio líquido (1º ao 5º dia, com sobrecarga equivalente a 50% do peso corporal e número crescente de saltos e séries), os animais foram submetidos a um programa de treinamento físico resistido, de acordo com o protocolo descrito por Rogatto (2001a) e adaptado por Cunha et al. (2005a, 2005b).

O treinamento físico resistido (Rogatto, 2001a; Cunha et al. 2005a, 2005b) consistiu de saltos em meio líquido com sobrecarga de peso, uma vez por dia, entre às 9:00 e 11:00h, 5 dias por semana, durante 5 semanas (tabela 1). Em cada sessão, foram realizadas 4 séries de 10 saltos, e entre as séries houve um intervalo de 30 segundos. O treinamento foi realizado com sobrecarga progressiva de peso, até atingir a carga máxima de 70% do peso corporal do animal. A sobrecarga foi acoplada ao tórax dos mesmos por meio de um colete. Após cada sessão de treinamento, os animais foram secos com toalha absorvente e mantidos por cerca de 30 min no laboratório com aquecedor ligado, até estarem completamente secos, quando foram transportados ao biotério de experimentação.

Tabela 1 - Protocolo de treinamento físico resistido

Dia de treinamento	Treinamento	Sobrecarga (% Peso corporal)
1°	2 séries de 5 saltos	50
2°	3 séries de 5 saltos	50
3°	4 séries de 5 saltos	50
4°	4 séries de 7 saltos	50
5°	4 séries de 9 saltos	50
6° ao 15°	4 séries de 10 saltos	50
16° ao 25°	4 séries de 10 saltos	60
26° ao 30°	4 séries de 10 saltos	70

3.4. Evolução temporal do lactato sanguíneo

Ao final de cada semana de treinamento físico, foram coletadas cinco amostras de sangue de cada animal (que representavam tal semana), no estado de repouso, imediatamente após, 20, 40 e 60 minutos após o término das 4 séries de saltos, durante as 5 semanas do protocolo. Antes de realizar a coleta, a cauda do animal foi seca com toalha absorvente para impedir que o sangue fosse contaminado com água. Após esse procedimento a extremidade da cauda do animal foi cortada com tesoura e 25 µL de sangue foi coletado com o auxílio de um capilar. As concentrações sanguíneas de lactato foram determinadas imediatamente após a coleta por meio da utilização de um lactímetro (YSI modelo 1500 SPORT).

3.5. Sacrifício dos animais e coleta dos tecidos

Quarenta e oito horas após a última sessão de treinamento físico, os animais foram mortos por decapitação, sem anestesia. A anestesia não foi usada para evitar a interferência na concentração sanguínea de corticosterona, visto que já foi demonstrado que as concentrações plasmáticas de ACTH e corticosterona elevam-se em animais anestesiados (Vanderwolf *et al.*, 1988; Holson, 1992; Vahl *et al.*, 2005). O sangue foi coletado, e amostras de plasma e soro foram armazenadas para posterior dosagem de corticosterona e atividade sérica da CK, respectivamente. Os músculos sóleo e EDL também foram removidos do animal, pesados e armazenados para análise da ASTFM em ambos, e para análise da expressão das isoformas da MHC no músculo sóleo. O peso dos

músculos foi normalizado pelo peso corporal e expresso pela razão peso muscular/100g peso corporal. Este período de 48 horas após a última sessão de treinamento físico foi utilizado para se avaliar o efeito crônico, ou seja, o efeito de todo o protocolo de treinamento e não somente da última sessão sobre a atividade sérica da CK e sobre a morfologia dos músculos, pois é sabido que após este período, o tecido muscular já se encontra em estado de repouso, visto que a supercompensação de glicogênio já alcançou seu pico (Cunha *et al.*, 2005a).

3.6. Dosagens bioquímicas

A determinação da concentração plasmática de corticosterona foi determinada por ensaio enzimático colorimétrico, utilizando-se kit comercial produzido pela Assay Designs[®], com sensibilidade de 0,027 ng/mL, com coeficiente de variação intra e inter-ensaio de 7,7% e 9,7%, respectivamente. A atividade da CK foi medida utilizando-se o kit comercial CK-NAC UV AA, produzido pela Wiener[®], de acordo com as instruções na bula.

3.7. Análise histológica

Após o sacrifício, os músculos sóleo e EDL foram identificados, isolados e pesados. Os músculos foram cortados ao meio e a porção distal dos mesmos foi rapidamente congelada em nitrogênio líquido e mantida em freezer a -80°C. Posteriormente, cortes histológicos de 10µm do fragmento muscular congelado foram obtidos em micrótomo criostato a -20°C e submetidos à coloração hematoxilina-eosina. Foram obtidas quatro imagens, num aumento de 40x, de regiões distintas dos músculos e a área das fibras musculares presentes nas mesmas foram mensuradas utilizando-se um Sistema para Análise de Imagens Computadorizado (LeicaQWin Plus, Alemanha).

3.8. Expressão das isoformas da miosina de cadeia pesada (MHC)

A expressão das isoformas da miosina de cadeia pesada (MHC) foi avaliada por meio de eletroforese em gel de poliacrilamida duodecilsulfato de sódio (SDS-PAGE). Da mesma porção do músculo sóleo congelada para análise morfológica, foram obtidos 12 cortes de 12 µm de espessura em micrótomo criostato a -20 °C. Estes cortes foram colocados em 0,5 mL de uma solução contendo glycerol 10% (w/vol), 2-mercaptoethanol 5 % (vol/vol) e sodium

dodecylsulfate (SDS) 2,3 % (w/vol) em Tris/HCl tampão 0.9% (pH 6,8) (w/vol). Os cortes foram agitados durante um minuto e aquecidos por 10 minutos a 60°C. Foi realizada a eletroforese de pequenas quantidades dos extratos (28 µL), em gel (gradiente de 7-10%) de poliacríamida (SDS), com um gel de empacotamento a 4%, em um período de 26 horas de corrida a 120 V e, em seguida, corados com Coomassie Blue (Bar & Pette, 1988). Os géis foram utilizados para determinar a presença das isoformas de MHC identificadas de acordo com seus respectivos pesos moleculares, evidenciando as bandas nas regiões correspondentes. Os géis contendo as bandas de miosina foram escaneados e as imagens capturadas pelo programa Video Documentation System (VDS) (Pharmacia Biotech). Em seguida, estas imagens foram transferidas para o programa Image Master VDS (versão 3.0) e foi obtida a percentagem relativa (IOD) das isoformas MHCI e MHCII.

3.9. Análise Estatística

Os resultados estão apresentados como média \pm erro padrão da média (EPM). Para análise dos dados relacionados à influência das semanas de treinamento sobre a concentração sanguínea de lactato foi calculada a área sob a curva (AUC) utilizando-se o método trapezoidal, e realizada a análise estatística por meio da Análise de Variância Simples, seguida do Teste de Tukey. Para comparação da concentração sanguínea de lactato entre os diferentes tempos (imediatamente após, 20, 40 e 60 minutos após o exercício) e o repouso, foi utilizada a Análise de Variância Simples, seguida do Teste de Dunnett. Para análise dos demais dados, foi utilizada a Análise de Variância Bifatorial, seguida do Teste de Tukey. Valores de p menores do que 0,05 foram indicativos de significância estatística.

4. RESULTADOS

Na figura 2 estão apresentados os dados referentes à concentração sanguínea de lactato, em cada uma das cinco semanas de treinamento físico por salto em água. Nas medidas realizadas imediatamente após o exercício, em todas as cinco semanas de treinamento, houve aumento na concentração sanguínea de lactato, em relação ao repouso ($p < 0,05$; ANOVA simples + Dunnett). Observa-se também que ao longo das quatro primeiras semanas de treinamento, o pico da concentração sanguínea de lactato foi atingido 20 minutos após a realização do exercício, enquanto que na quinta semana, o pico foi observado imediatamente após a realização do exercício. O retorno da concentração sanguínea de lactato aos valores basais ocorreu quarenta minutos após o término do treinamento, em todas as semanas de treinamento. Não foram observadas diferenças estatísticas na AUC da concentração sanguínea de lactato entre as cinco semanas de treinamento (Semana 1 = 552.8 ± 68.08 ; Semana 2 = 634.5 ± 45.89 ; Semana 3 = 615.0 ± 58.52 ; Semana 4 = 543.2 ± 34.33 ; Semana 5 = 422.6 ± 50.75 mmol/L; $p > 0,05$; ANOVA simples + Tukey).

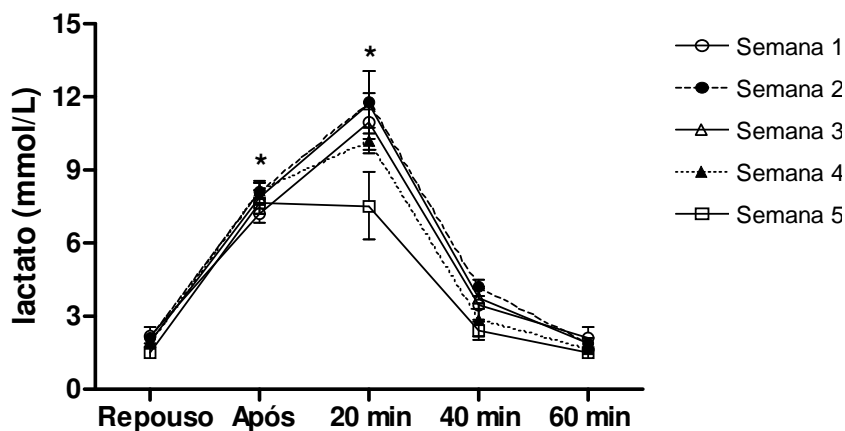


Figura 2. Evolução temporal da concentração sanguínea de lactato (mmol/L) de ratos submetidos a treinamento físico de alta intensidade durante cinco semanas. Os valores estão apresentados como média \pm EPM. *Diferença significativa em relação ao repouso. ($p < 0,05$; ANOVA simples + Dunnett). Área sob curva utilizando método trapezoidal (ANOVA simples + Tukey).

Na figura 3 estão apresentados os dados referentes à atividade sérica da enzima creatina quinase (CK) de ratos 48 horas após os mesmos terem sido submetidos, ou não, a treinamento físico de alta intensidade. O treinamento reduziu significativamente a atividade da enzima CK em todas as semanas de treinamento avaliadas ($p < 0,05$). Entretanto, não foram observadas diferenças estatísticas entre as semanas do protocolo, nos grupos não treinado e treinado ($p > 0,05$).

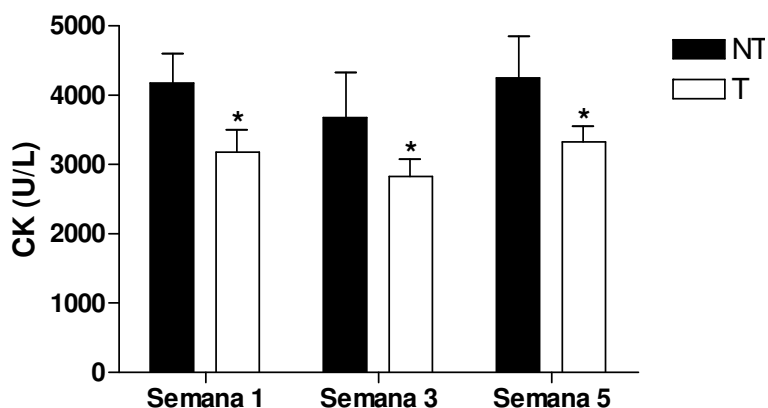


Figura 3. Atividade sérica da CK (U/L) de ratos submetidos ou não ao treinamento físico de alta intensidade. NT = não treinado, T = treinado. Os valores estão apresentados como média \pm EPM. *Diferença significativa em relação ao respectivo grupo não treinado ($p < 0,05$; ANOVA bifatorial + Tukey).

Na figura 4 estão apresentados os dados referentes à concentração plasmática de corticosterona. O grupo treinado apresentou aumento significativo da concentração plasmática da corticosterona em todas as semanas de treinamento em relação ao grupo não treinado ($p < 0,05$). Todavia, não foram observadas diferenças significativas nos níveis plasmáticos de corticosterona entre as semanas do protocolo, em ambos os grupos ($p > 0,05$).

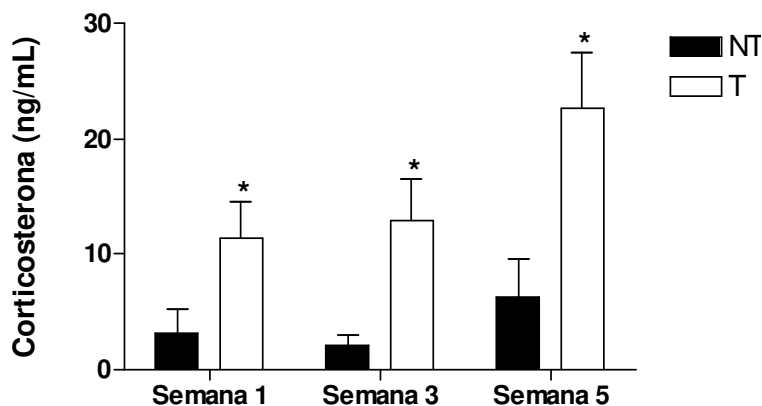


Figura 4. Concentração plasmática de corticosterona (ng/mL) de ratos submetidos ou não a treinamento físico de alta intensidade. NT = não treinado, T = treinado. Os valores estão apresentados como média \pm EPM. *Diferença significativa em relação ao respectivo grupo não treinado ($p < 0,05$; ANOVA bifatorial + Tukey).

Na figura 5 estão apresentados os dados referentes ao peso corporal dos animais. Não foram constatadas diferenças estatísticas entre os grupos experimentais no peso corporal na primeira semana ($p > 0,05$). Na terceira e na quinta semana, o grupo treinado apresentou peso corporal significativamente menor do que o grupo não treinado ($p < 0,05$). No grupo não treinado, o peso corporal na semana três foi estatisticamente maior em relação à semana um ($p < 0,05$), e na semana cinco em relação à semana três e um ($p < 0,05$). Com relação ao grupo treinado, observa-se um aumento significativo do peso corporal apenas na semana cinco ($p < 0,05$).

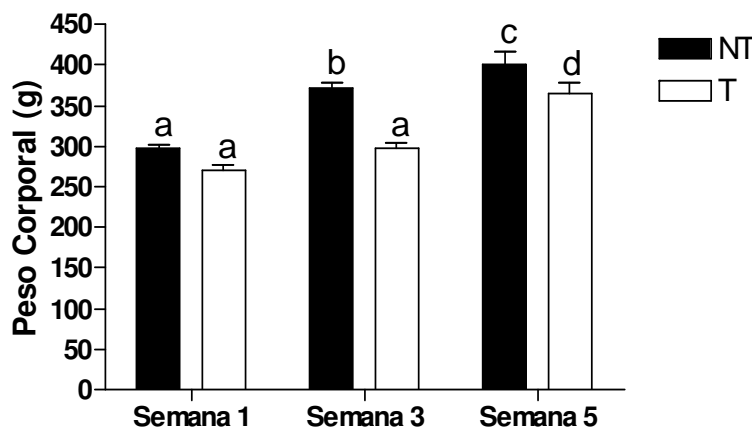


Figura 5. Peso corporal (g) de ratos submetidos ou não a treinamento físico de alta intensidade. NT = não treinado, T = treinado. Os valores estão apresentados como média \pm EPM. Letras diferentes indicam grupos diferentes entre si ($p < 0,05$; ANOVA bifatorial + Tukey).

Na figura 6 estão apresentados os dados referentes à razão entre o peso do músculo sóleo e o peso corporal dos animais. Não foram observadas diferenças estatísticas entre o grupo não treinado e treinado na primeira semana de treinamento ($p > 0,05$). Na terceira e na quinta semanas de treinamento o grupo treinado apresentou diminuição da razão peso muscular/peso corporal em relação ao grupo não treinado ($p < 0,05$). Nos grupos não treinados, observa-se que na terceira e quinta semanas houve aumento na razão peso muscular/peso corporal em relação à primeira semana ($p < 0,05$). Nos grupos treinados, este aumento foi observado na quinta semana em relação à primeira e terceira semana ($p < 0,05$).

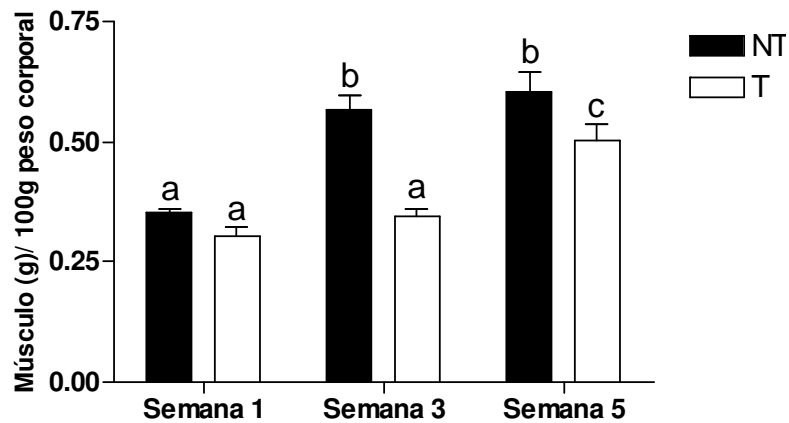


Figura 6. Peso do músculo sóleo (g)/100g do peso corporal de ratos submetidos ou não a treinamento físico de alta intensidade. NT = não treinado, T = treinado. Os valores estão apresentados como média \pm EPM. Letras diferentes indicam grupos diferentes entre si ($p < 0,05$; ANOVA bifatorial + Tukey).

Com relação à área de secção transversa da fibra muscular (ASTFM) do músculo sóleo, não foi observada diferença estatística entre o grupo não treinado e treinado na primeira semana de treinamento (figura 7, $p > 0,05$). Na terceira e na quinta semana, o grupo treinado apresentou ASTFM significativamente menor em relação ao grupo não treinado (figura 7, $p < 0,05$). No grupo não treinado, observa-se que na terceira e quinta semana houve aumento na ASTFM em relação à primeira semana (figura 7, $p < 0,05$), sem diferenças entre as semanas, no grupo treinado (figura 7, $p > 0,05$).

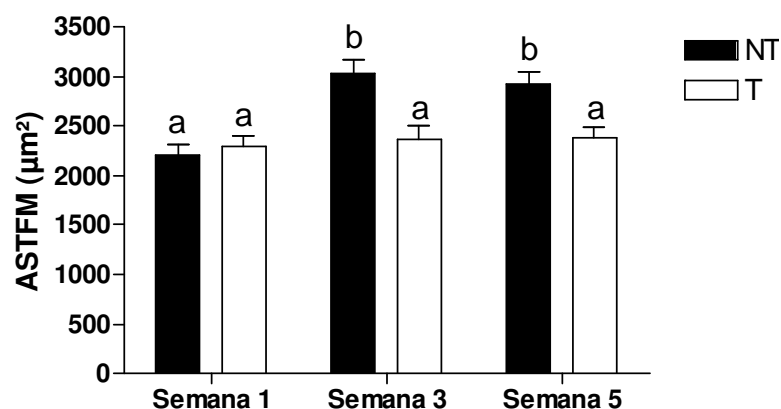


Figura 7. Área média de secção transversa (μm^2) da fibra muscular (ASTFM) do músculo sóleo de ratos submetidos ou não a treinamento físico de alta intensidade. NT = não treinado, T = treinado. Os valores estão apresentados como média \pm EPM. Letras diferentes indicam grupos diferentes entre si ($p < 0,05$; ANOVA bifatorial + Tukey).

Na figura 8 estão apresentados os dados referentes à razão entre o peso do músculo EDL e o peso corporal dos animais. Não foram observadas diferenças estatísticas entre o grupo não treinado e treinado, na primeira semana de treinamento ($p > 0,05$). Na terceira e na quinta semanas de treinamento o grupo treinado apresentou diminuição da razão peso muscular/peso corporal em relação ao grupo não treinado ($p < 0,05$). Nos grupos não treinados, observa-se que na terceira e quinta semanas houve aumento na razão peso muscular/peso corporal em relação à primeira semana ($p < 0,05$). Nos grupos treinados, este aumento foi observado na quinta semana em relação à primeira e terceira semana ($p < 0,05$).

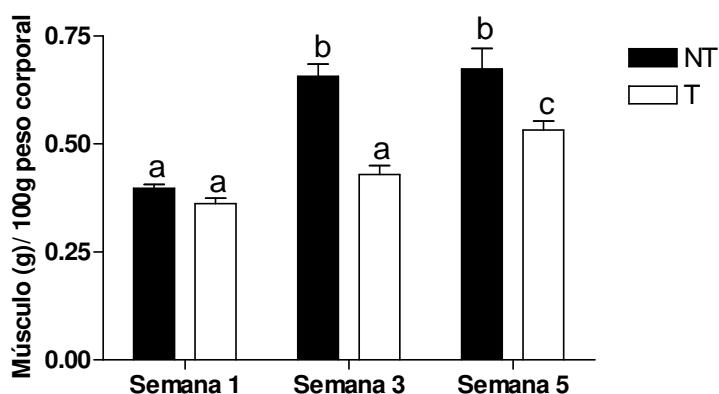


Figura 8. Peso do músculo EDL (g)/100g do peso corporal de ratos submetidos ou não a treinamento físico de alta intensidade. NT = não treinado, T = treinado. Os valores estão apresentados como média \pm EPM. Letras diferentes indicam grupos diferentes entre si ($p < 0,05$; ANOVA bifatorial + Tukey).

Com relação à área de secção transversa da fibra muscular (ASTFM) do músculo EDL, não foi observada diferença estatística entre o grupo não treinado e treinado em nenhuma das semanas de treinamento (figura 9, $p > 0,05$). No grupo não treinado, observa-se que na terceira e quinta semana houve aumento na ASTFM em relação à primeira semana (figura 9, $p < 0,05$), sem diferenças entre as semanas, no grupo treinado (figura 9, $p > 0,05$).

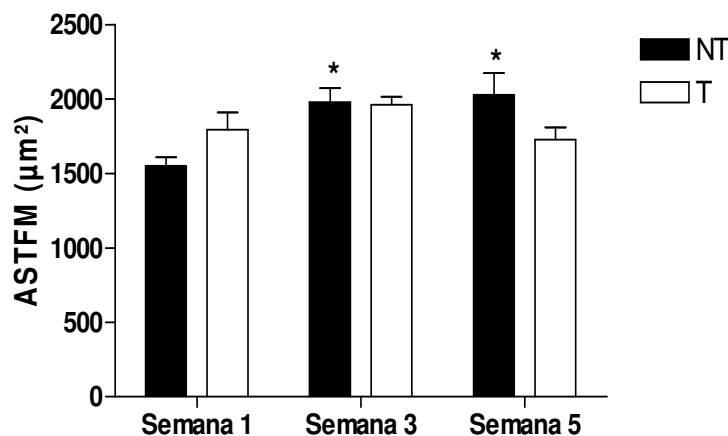


Figura 9. Área média de secção transversa (μm^2) da fibra muscular (ASTFM) do músculo EDL de ratos submetidos ou não a treinamento físico de alta intensidade. NT = não treinado, T = treinado. Os valores estão apresentados como média \pm EPM. Letras diferentes indicam grupos diferentes entre si ($p < 0,05$; ANOVA bifatorial + Tukey).

Nas figuras 10 e 11 estão apresentados os dados referentes à porcentagem das isoformas de cadeia pesada de miosina I (MHCI) e IIA (MHCIIA), respectivamente, no músculo sóleo de animais submetidos, ou não ao treinamento físico resistido. Não foram observadas diferenças estatísticas entre o grupo não treinado e treinado na primeira e na terceira semana de treinamento em nenhum dos dois tipos de MHCs ($p > 0,05$). Na quinta semana, o grupo treinado apresentou diminuição no conteúdo de MHCI (figura 10; $p < 0,05$) e aumento no conteúdo de MHCIIA (figura 11; $p < 0,05$) em relação ao grupo não treinado. Não foram observadas diferenças estatísticas, com relação às semanas, dentro do grupo treinado e dentro do grupo não treinado ($p > 0,05$).

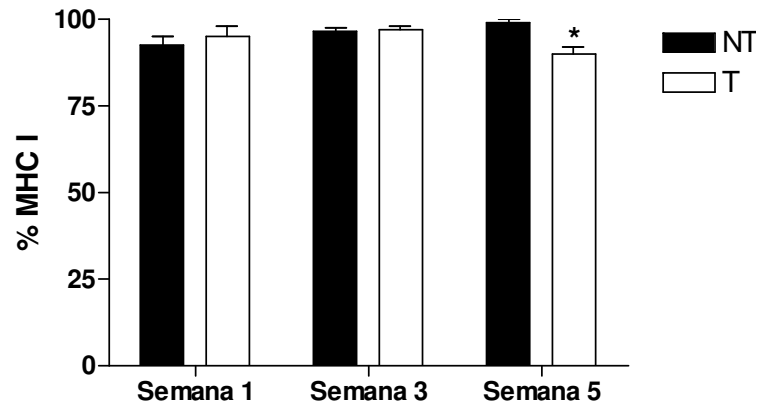


Figura 10. Porcentagem de cadeia pesada de miosina I (MHC I) no músculo sóleo de ratos submetidos ou não a treinamento físico de alta intensidade. NT = não treinado, T = treinado. Os valores estão apresentados como média \pm EPM. *Diferença significativa em relação ao respectivo grupo não treinado ($p < 0,05$; ANOVA bifatorial + Tukey).

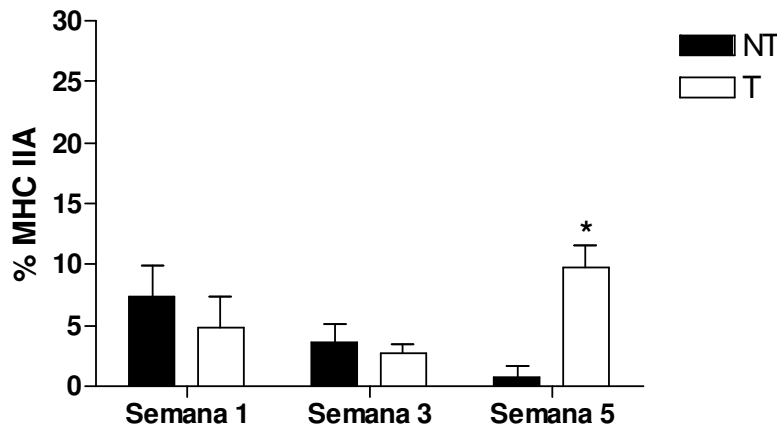


Figura 11. Porcentagem de cadeia pesada de miosina IIA (MHC IIA) no músculo sóleo de ratos submetidos ou não a treinamento físico de alta intensidade. NT = não treinado, T = treinado. Os valores estão apresentados como média \pm EPM. *Diferença significativa em relação ao respectivo grupo não treinado ($p < 0,05$; ANOVA bifatorial + Tukey).

5. DISCUSSÃO

Sabe-se que a prática de exercício físico tem crescido muito nos últimos anos, e que não apenas a promoção da saúde, como também o desenvolvimento de um corpo atlético tem sido o objetivo das pessoas que o pratica. Para atingir seus objetivos os indivíduos realizam exercício físico, em especial o treinamento resistido, sem respeitar sua capacidade individual e as orientações de profissional habilitado. Por motivos éticos não é possível o estudo das respostas à realização deste tipo de treinamento em humanos. Desse modo, faz-se necessária a utilização de protocolos de treinamento físico para animais de laboratório, para que por meio deles possa-se observar e compreender os mecanismos envolvidos no desenvolvimento dos diversos efeitos no organismo decorrentes da realização deste tipo de treinamento.

No presente estudo foi observado que, logo após o término do exercício, nas cinco semanas de treinamento, houve aumento na concentração sanguínea de lactato, em relação ao repouso, atingindo-se valores superiores a 5,5 mmol/L, o que indica que o protocolo utilizado é predominantemente anaeróbio (Gobatto *et al.*, 2001a). Nossos dados corroboram o estudo de Marquezi *et al.* (2003), os quais mostraram que ratos treinados em exercício de natação com sobrecarga até a exaustão, apresentaram concentração sanguínea de lactato de 11 mmol/L, ou seja, acima de 5,5 mmol/L. Ferreira *et al.* (2001) também observaram que, em resposta a um protocolo de natação com sobrecarga de 9% do peso corporal, houve aumento na concentração do lactato plasmático (11,5 mmol/L), superior a 5,5 mmol/L, concomitante com a redução da concentração muscular de glicogênio no gastrocnêmio logo após o término do exercício. Portanto, o protocolo de natação com sobrecarga é eficiente na mobilização de glicogênio e acúmulo de lactato (Raja *et al.*, 2003).

O glicogênio muscular é a principal fonte de energia usada pelos músculos durante o exercício de alta intensidade, com conseqüente formação de lactato (Greenhaff & Timmons, 1998; Fournier *et al.*, 2002). Entretanto, a utilização do mesmo ocorre principalmente se o exercício durar entre 8 e 35 segundos (Muramaki *et al.*, 1997). Neste sentido, Tanno *et al.* (2006) relataram que o tempo médio gasto pelo animal para realizar cada série de dez saltos em água não ultrapassa 30 segundos. Portanto, a produção de energia durante este tipo de exercício parece ser obtida principalmente por meio da via

anaeróbia. Como resultado há o aumento da produção de lactato pelos músculos e consequente transferência do mesmo para o sangue (Medbo, 1993), o que explica a elevação da concentração sanguínea de lactato ao final das quatro séries de saltos no decorrer das cinco semanas de treinamento.

A maior concentração sanguínea de lactato após exercício progressivo máximo é consequência não só de sua maior produção pelas células musculares após esse tipo de exercício (Bret *et al.*, 2003), mas também da maior quantidade de transportadores de lactato capazes de levá-lo para fora das células (Thomas *et al.*, 2005). De fato, alguns estudos têm identificado que o treinamento influencia a densidade dos transportadores de lactato em humanos (Pilegaard *et al.*, 1999; Juel *et al.*, 2003) e em ratos (Baker *et al.*, 1998). Porém, a concentração sanguínea de lactato é influenciada não só por sua produção e liberação, mas também pela remoção do mesmo (Brooks, 2000).

Alguns órgãos contribuem para remoção de lactato do sangue, como é o caso do fígado, o qual usa o lactato como substrato para produção de glicose por meio da gliconeogênese; e o coração, que usa o lactato como fonte de energia. Mas o músculo esquelético parece ter a maior influência na remoção de lactato sanguíneo durante e após a realização do exercício (Bonen, 2000; Brooks, 2000). Durante o período de recuperação do exercício de alta intensidade, o músculo esquelético tem a capacidade de refazer seus estoques de glicogênio, fenômeno denominado supercompensação do glicogênio muscular. Em estudo anterior, conduzido por nosso grupo de pesquisa observou-se que, em resposta ao treinamento físico utilizado no presente estudo, houve aumento do conteúdo de glicogênio na porção branca do músculo gastrocnêmio de ratos, 48 horas após o término do exercício (Cunha *et al.*, 2005a).

O lactato é uma das principais fontes de carbono para síntese do glicogênio muscular, e a mesma pode ocorrer por duas vias distintas, a “muscle lactate glyconeogenesis” e a gliconeogênese hepática (Nikolovski *et al.*, 1996). A primeira via atua exclusivamente nos músculos ricos em fibras vermelhas de contração rápida ou em fibras brancas de contração rápida e tem a capacidade de converter diretamente lactato em glicogênio. Na segunda via, após a liberação do lactato do músculo, o fígado converte este metabólito em glicose, a qual é liberada no sangue e então captada e estocada como glicogênio no músculo esquelético (Fournier *et al.*, 2002). A atividade da via “muscle lactate glyconeogenesis” é altamente

dependente da concentração de lactato (Fournier *et al.*, 2002). As elevadas concentrações de lactato sanguíneo observadas no presente estudo, em comparação com os valores basais, sugerem que esta via pode estar sendo estimulada e ser a principal responsável pela síntese do glicogênio muscular durante o período de recuperação do exercício de alta intensidade em ratos (Ferreira *et al.*, 2005).

No presente estudo foi observado também que o pico da concentração sanguínea de lactato (~ 11 mmol/L) ocorreu 20 minutos após a realização do exercício, ao longo das quatro primeiras semanas de treinamento. Todavia, na quinta semana de treinamento físico, o pico (7,5 mmol/L), foi observado imediatamente após a realização do exercício. Embora não tenha sido observada diferença estatística na AUC da concentração do lactato sanguíneo entre as cinco semanas de treinamento, a diminuição da AUC na quinta semana sugere que haja uma tendência à adaptação no que se refere à metabolização deste metabólito no decorrer do protocolo de treinamento físico. Neste sentido, Donovan *et al.* (1983, 1990) observaram que, em resposta ao treinamento de resistência, houve diminuição na concentração sanguínea de lactato em animais treinados e que esta resposta estaria relacionada à maior eficiência na remoção do lactato, ao invés de uma diminuição na sua produção. Resposta semelhante pode ter ocorrido frente ao protocolo de treinamento de alta intensidade utilizado neste estudo, visto que Baker *et al.* (1998) observaram aumento no conteúdo do transportador de lactato MCT1, responsável pela remoção do lactato do sangue, presente no músculo sóleo de ratos. Os autores sugeriram que em consequência, há um aumento na captação de lactato, decorrente de treinamento de alta intensidade em esteira. Portanto, sugerimos que a tendência à diminuição nos valores do pico do lactato na semana cinco poderia também estar relacionada ao aumento na quantidade de MCT1 e consequente captação deste substrato para oxidação. Porém esta hipótese requer futuros estudos para confirmação.

Desse modo, as menores concentrações plasmáticas de lactato observadas na quinta semana de treinamento indicam que o protocolo de treinamento empregado foi eficaz no que diz respeito à melhora na metabolização do lactato. Isto poderia estar relacionado com a melhora da *performance* física, visto que o acúmulo de lactato contribuiria para o aumento de H⁺, liberado durante a conversão de ácido lático em lactato, o qual levaria a

acidose metabólica com conseqüente inibição de enzimas glicolíticas e da contração do músculo esquelético (Menzies *et al.*, 2010).

Outro parâmetro utilizado como indicador da condição funcional do músculo é a concentração sanguínea das enzimas musculares esqueléticas (Brancaccio *et al.*, 2007). Pelo fato da CK catalisar a troca reversível de fosfato de alta energia entre a fosfocreatina e o ADP, ela é responsável pela “síntese” de ATP (Trump *et al.*, 1996), e encontra-se presente em sítios com alto consumo de energia, como a célula muscular durante o processo de contração (Schneider *et al.*, 1995). A estrutura molecular desta proteína impede que a mesma seja liberada do tecido para a corrente sanguínea. Entretanto, em situações nas quais ocorre lesão da membrana da célula muscular, a CK é liberada no líquido extracelular, o que eleva também sua atividade no sangue (Prada *et al.*, 2004). Desse modo, o aumento da atividade sérica da CK-MM é utilizado para diagnosticar e avaliar dano à célula muscular esquelética (Schneider *et al.*, 1995).

Em resposta ao treinamento físico empregado foi observada redução na atividade sérica da CK dos animais treinados em relação aos animais não treinados, nas cinco semanas de treinamento. Prada *et al.* (2004) também observaram que animais treinados em exercício de natação com sobrecarga, por quatro semanas, apresentaram redução na atividade sérica da CK quando comparados com animais controle, 48 horas após ambos terem sido submetidos ao teste de esforço com carga fixa. Esta adaptação sugere que tal protocolo de treinamento físico promova adaptações metabólicas que favoreçam a diminuição de lesões musculares ao longo do mesmo.

Quando o exercício é realizado de forma contínua, a magnitude das mudanças observadas nos marcadores de lesão muscular é menor e a recuperação da função do músculo é mais rápida do que quando o exercício é realizado de forma aguda (Clarkson, Nosaka & Braun, 1992; McHugh, 2003). Portanto, o dano causado pelas contrações musculares parece diminuir com o treinamento sistemático, fenômeno denominado “efeito protetor da carga repetida” e observado a partir do segundo dia após o início do exercício (Nosaka & Newton, 2002; McHugh, 2003; Foschini *et al.*, 2007). Sabe-se que é necessário algum grau de dano muscular para que o efeito protetor se inicie; entretanto não é necessário que ocorra uma recuperação total da função muscular para que tal efeito seja observado (Ebbeling & Clarkson, 1990; Nosaka *et al.*, 2001). Se uma segunda série de

exercícios for realizada no início do estágio de recuperação (1-5 dias) da primeira série, não há aumento do dano muscular, nem atraso na recuperação do exercício inicial (Paddon-Jones, Muthalib & Jenkins, 2000; Lavender e Nosaka, 2008).

Portanto, a realização do exercício de forma aguda causa danos ao tecido, os quais de alguma forma produzem uma adaptação tornando o músculo mais resistente a lesão gerada pela realização crônica do mesmo (Clarkson & Hubal, 2002). Assim, observa-se que, após a prática de exercício agudo, ocorre aumento na atividade de CK, sem alteração da mesma quando o exercício é realizado de forma contínua (Clarkson & Tremblay, 1988; Balnave & Thompson, 1993). Tal resposta parece estar relacionada não somente à adaptação que ocorre na fibra muscular, a qual a torna mais resistente ao estresse causado pelo exercício, e diminui a liberação da CK (Newham *et al.*, 1987), mas também pode estar relacionada à remoção mais rápida da CK do sangue (Clarkson & Hubal, 2002).

Nosaka & Clarkson (1994) avaliaram o efeito da realização de uma segunda série de exercício na atividade plasmática da CK quando a concentração sanguínea da mesma ainda estava elevada pela realização prévia de exercício. Para isso, os voluntários realizaram exercício resistido para os músculos flexores do antebraço no 1º dia do experimento (1ª série) e depois de três dias (2ª série). Foi observado que o aumento na atividade plasmática da CK foi maior após a primeira série do que após a segunda série de exercício. Os autores sugerem que o processo de remoção da CK após a segunda série foi ativado pelo aumento de tal enzima decorrente da realização da primeira série de exercício. Considerando que o protocolo de treinamento utilizado no presente estudo é realizado de forma contínua, bem como os relatos da literatura no que se refere à adaptação muscular frente ao exercício físico, sugerimos que tal adaptação tenha ocorrido em resposta ao treinamento físico empregado. Assim, o dano muscular gerado no primeiro dia de treinamento levaria ao aumento sérico da CK, o qual ativaria sua remoção em resposta ao segundo dia de treinamento, e assim sucessivamente. Assim, isto explica a diminuição nos níveis séricos da CK no grupo treinado, em relação ao grupo não treinado, em todas as semanas avaliadas.

É importante ressaltar que os valores basais de CK no grupo NT estão bem acima dos encontrados na literatura. Entretanto, deve-se deixar claro que a maioria dos trabalhos realiza a coleta do sangue para dosagem de tal enzima por meio de punção cardíaca, método que necessita de anestesia prévia. Como citado anteriormente, não utilizamos

método de sacrifício envolvendo anestesia, pois sabe-se que a mesma influencia a concentração sanguínea de corticosterona. Por outro lado, o sacrifício por decapitação aumenta os valores basais de CK, pois a CK presente nos músculos da região cervical do animal é liberada durante a realização do procedimento, aumentando a concentração da mesma na amostra coletada. Porém, como foi realizado o mesmo método de sacrifício nos animais não treinados e treinados pode-se afirmar que a diferença observada na resposta da CK entre os grupos deve-se ao treinamento em si e não ao método de sacrifício.

Como mostrado nos parágrafos acima, o protocolo de treinamento empregado promoveu adaptação positiva no que se refere à resposta de lesão muscular, visto que o grupo treinado apresentou diminuição da concentração sérica de CK. De fato, o exercício físico regular pode levar a uma série de adaptações fisiológicas nos diferentes sistemas do organismo, promovendo bem estar, saúde e melhora da *performance* atlética de seus praticantes (Wahren *et al.*, 1979; Rogatto & Luciano, 2001a). Entretanto, se realizado de forma inadequada, seja pela intensidade, frequência e/ou duração, o desenvolvimento e a função desses sistemas orgânicos podem ser prejudicados (Machinnon *et al.*, 1997). Desse modo, o programa de treinamento, especialmente no que se refere à variável intervalo de recuperação entre as séries e sessões, deve ser bem definido e respeitado para evitar que ocorra um desequilíbrio prolongado, o qual poderia levar a uma situação de *overtraining*, comprometendo o desempenho físico e a saúde do indivíduo (Rogatto & Luciano, 2001a; Hug *et al.*, 2003).

Os dados do presente estudo mostram que o treinamento físico aumentou a concentração basal de corticosterona nos animais submetidos ao mesmo em relação aos animais não treinados, em todas as semanas do protocolo. Peijie *et al.* (2003) observaram que ratos submetidos diariamente a exercício de natação de alta intensidade, durante seis semanas, apresentaram aumento na concentração plasmática de glicocorticóides em relação ao grupo controle, e que o retorno destes ao nível basal foi relativamente lento, permanecendo elevado por 36 horas após o término da última sessão de treinamento. Sabe-se que os glicocorticóides são secretados continuamente mantendo uma concentração sanguínea basal. Entretanto, em resposta à presença de vários tipos de estressores físicos e/ou psicológicos há um aumento na secreção dos mesmos, principalmente quando o estímulo estressor é mantido por um tempo prolongado, tal como o que ocorre quando o

treinamento físico é realizado por semanas. Quando a concentração dos glicocorticóides se mantém elevada por um período prolongado, pode ocorrer perda da massa muscular devido tanto ao aumento na degradação protéica muscular quanto à diminuição na síntese da mesma (Coleman *et al.*, 1998; Marqueti *et al.*, 2006; Pereira & Freire de Carvalho, 2011).

Assim como os exercícios aeróbios, os exercícios anaeróbios, por si só, também podem modificar a composição corporal. De fato, por meio dos resultados obtidos com relação ao peso corporal foi observado que os animais submetidos ao treinamento apresentaram menor ganho de peso a partir da terceira semana de treinamento em comparação com animais não treinados. A redução do peso corporal provocada pelo treinamento pode ser explicada pela intensa utilização de lipídeos durante a fase de recuperação pós-exercício (Yoshioka *et al.*, 2001). De acordo com Kimber *et al.* (2003), a fonte primária de lipídeo usada durante o período de recuperação do exercício pode ser obtida da circulação, como os ácidos graxos e os triglicerídeos. Neste contexto, Cunha *et al.* (2005a) observaram diminuição da concentração plasmática de triglicerídeos em animais submetidos ao mesmo protocolo de treinamento do presente estudo.

É importante destacar porém que, no presente estudo, todos os animais apresentaram aumento significativo do peso corporal com relação ao início do período experimental, indicando que o protocolo utilizado, apesar de intenso, não submeteu os animais a uma situação de *overtraining* (Cunha *et al.*, 2006).

A resposta do peso corporal dos animais submetidos ao treinamento foi acompanhada pela redução da razão peso do músculo (g)/100g do peso corporal dos músculos sóleo e EDL, ou seja, a partir da terceira semana de treinamento os animais do grupo treinado apresentaram redução da razão peso do músculo (g)/100g do peso corporal, em comparação com os animais não treinados. A diminuição nas reservas lipídicas, utilizadas no processo de recuperação após o exercício, também podem estar envolvidas nesta adaptação. Neste sentido, Kiens & Richter (1998) observaram que em indivíduos submetidos a treinamento intenso, o conteúdo intramuscular de triglicerídeos diminuiu de maneira significativa durante as primeiras 18 horas do período de recuperação. Os autores sugerem que essa diminuição nos triglicerídeos musculares deve-se ao fato do mesmo ser utilizado como fonte de energia nos processos de gliconeogênese e em outros processos de recuperação do músculo submetido a este tipo de exercício. Além disso, o músculo pode ter

perdido peso devido a ocorrência do catabolismo protéico decorrente da ação dos glicocorticóides, como explicado mais adiante.

Além do conteúdo protéico o músculo esquelético também é constituído por tecido conjuntivo extracelular, o qual fornece suporte estrutural externo para a célula muscular esquelética (Moore *et al.*, 2005). Um dos componentes do tecido conjuntivo é o colágeno. A síntese de colágeno no músculo é regulada pelo exercício, tendo sua resposta aumentada quando o mesmo é submetido a uma sobrecarga (Heinemeier *et al.*, 2007). Sabe-se que o exercício de alta intensidade, especialmente o levantamento de peso realizado de forma aguda causa danos ao tecido muscular. O aumento na síntese de colágeno decorrente da realização deste tipo de exercício pode ser uma parte do processo de reparação, mas também acontece sem a ocorrência do dano muscular. Dessa forma, o aumento na síntese de colágeno após a realização do exercício pode retratar tanto uma adaptação fisiológica quanto uma reparação da lesão muscular (Kjaer, 2004). Outro resultado observado no presente estudo com relação ao peso dos músculos foi que, embora não tenha ocorrido alteração na ASTFM dos músculos sóleo e EDL no decorrer das semanas no grupo treinado, tal resposta não foi acompanhada pelo peso muscular, visto que houve aumento no peso dos mesmos na quinta semana. Renno *et al.* (2007) também observaram aumento no peso dos músculos sóleo e tibial anterior, sem alteração na ASTFM de tais músculos de fêmeas ovariectomizadas submetidas a oito semanas de treinamento de salto em água com sobrecarga, corroborando os nossos resultados. Estes autores sugerem que o aumento na massa muscular poderia estar envolvido com o rearranjo do tecido conjuntivo, o qual também está associado com a contração muscular, contribuindo para o aumento no peso do músculo.

Anteriormente foi mostrado que o protocolo aumentou a concentração basal de corticosterona nos animais treinados e que o aumento desse hormônio poderia causar perda da massa muscular. De fato, foi observado também no presente estudo que a partir da terceira semana do protocolo houve diminuição da ASTFM do músculo sóleo de animais treinados comparados com animais não treinados. A diminuição na área de secção transversa das fibras musculares de tal músculo pode ter ocorrido devido à ação catabólica da corticosterona no músculo esquelético (Deschenes & Kraemer 2002).

Em estudo anterior realizado por nosso grupo de pesquisa (Cunha *et al.*, 2006), não foi observada diferença significativa na concentração protéica total e de DNA no músculo sóleo de ratos treinados em relação aos animais não treinados. Conjuntamente, os resultados anteriores e os do presente estudo sugerem a ausência de aumento na concentração protéica total no músculo sóleo possa ser reflexo da diminuição da ASTFM nesse mesmo músculo. Além disso, conforme o processo de hipertrofia muscular se desenvolve, em resposta à ativação das células satélite, há adição de novos mionúcleos às fibras musculares já existentes, aumentando o conteúdo de DNA nas mesmas. Por esse motivo, a concentração de DNA também tem sido utilizada como indicador do processo de hipertrofia (Gibson *et al.*, 1983). Como no estudo de Cunha *et al.* (2006) não foi observado aumento significativo na concentração de DNA no músculo sóleo em resposta ao treinamento, nossos dados parecem confirmar a ausência da resposta hipertrófica ao protocolo e regime de treinamento empregados.

Foi observado também, no presente estudo, que não houve alteração na ASTFM do músculo EDL de animais treinados quando comparados com animais não treinados, em nenhuma das semanas avaliadas. Analisando-se em conjunto os dados referentes a ASTFM dos músculos sóleo e EDL, acredita-se que a ausência de hipertrofia em tais músculos dos animais treinados possa estar relacionada à sobrecarga, decorrente ao treinamento físico diário. Sabe-se que o intervalo de recuperação entre as sessões de treinamento deve ser de pelo menos, 36 a 48 horas, visto que esse é o período de pico da síntese protéica após o exercício (Secchi *et al.*, 2008). Entretanto, faltam estudos que avaliem a relação entre o período de recuperação entre as sessões e a resposta hipertrófica decorrente da realização de treinamento físico. Os estudos que abordam o tema periodização do treinamento comparam frequentemente o período de intervalo entre as séries e não entre as sessões.

Ao contrário dos resultados obtidos no presente estudo, Dela Cruz (2008) observou aumento da ASTFM dos músculos sóleo e EDL de ratos submetidos ao mesmo protocolo de treinamento físico utilizado no presente estudo durante 5 semanas, porém realizado em dias alternados. O autor sugere que esse aumento da ASTFM possa ser resultado da interação entre hormônios musculares e receptores celulares que poderiam ter um efeito na fase subsequente ao período de recuperação, estimulando assim a hipertrofia por meio do aumento da síntese de proteínas, observada nas primeiras horas após o treinamento de

força. Pelo fato do presente estudo utilizar o mesmo protocolo de treinamento de Dela Cruz (2008), porém realizado diariamente, podemos comparar o resultado referente a ASTFM entre tais estudos e concluir que a ausência do tempo de recuperação entre as sessões parece ser o fator responsável pela ausência da hipertrofia em resposta ao treinamento utilizado no presente estudo. Portanto, o intervalo de recuperação entre as sessões de treinamento é de extrema importância para que ocorra a adaptação muscular em resposta ao mesmo, resultando em uma hipertrofia muscular.

Embora se possa questionar que não foi o treinamento, mas sim o fato do músculo sóleo apresentar predominância de fibras oxidativas, o grande responsável pela ausência da hipertrofia em tal músculo, o trabalho citado anteriormente (Dela Cruz, 2008) confirma que o treino diário é o fator responsável por tal resposta, visto que quando o mesmo exercício foi realizado em dias alternados houve aumento da ASTFM do músculo sóleo. Além disso, pelo fato do EDL, um músculo predominantemente glicolítico, também não ter apresentado aumento da ASTFM constata-se que o treinamento físico diário, prejudica o desenvolvimento de hipertrofia muscular. Além disto, é importante ressaltar que Pereira *et al.*, (2009) também observaram ausência de hipertrofia de tal músculo de animais submetidos a treinamento físico diário por salto em água com sobrecarga, corroborando os nossos resultados.

Pode-se questionar também que a ausência de hipertrofia dos músculos analisados deve-se ao fato do protocolo utilizado ser um treinamento de potência e não um treinamento resistido, e por isso, o estresse tensional pelo qual o músculo é submetido seria insuficiente para gerar hipertrofia do mesmo. Entretanto, mesmo considerando tal protocolo como um treinamento de potência não é possível afirmar que a ausência de hipertrofia, frente ao modelo e regime utilizados, seja decorrente do mesmo ser um treinamento de potência e não resistido, pois a tensão muscular também pode apresentar-se elevada durante o treinamento de potência.

Neste sentido, já foi demonstrada a ocorrência do aumento da área de secção transversa da fibra muscular (ASTFM) do músculo vasto lateral de homens, em resposta ao treinamento de potência por salto (Malisoux *et al.*, 2006). Além disto, Lamas *et al.* (2007) também demonstraram que tanto indivíduos que realizaram treino de força (TF) quanto indivíduos que realizaram treino de potência (TP) tiveram aumento da ASTFM do músculo

vasto lateral, após 8 semanas de exercício de agachamento. Acredita-se que pelo fato da aceleração nas fases excêntrica e concêntrica do exercício de agachamento ser sucedida por uma frenagem ao final de cada fase, o grau de tensão muscular atingido neste momento eleva-se bastante no TP, visto que em virtude da maior velocidade durante o movimento, a desaceleração ao final também é maior. Desta forma, a força gerada durante a transição entre as fases no agachamento durante o TP é considerado um importante estímulo para a hipertrofia muscular.

Correlacionando estes achados com os apresentados por nosso grupo, utilizando o protocolo de saltos em meio líquido, acreditamos que durante a desaceleração da fase excêntrica do movimento, ou seja, quando os animais afundam (logo após efetuarem o salto) apoiando as patas traseiras no fundo do tanque, há um aumento da tensão muscular, a qual atua como estímulo para o aumento da ASTFM e conseqüente hipertrofia do músculo sóleo. Desta forma, o modelo de treinamento físico empregado no presente estudo, seria eficaz na promoção de hipertrofia muscular, hipótese confirmada no estudo de Dela Cruz (2008).

Outra maneira de avaliar a adaptação do músculo esquelético ao treinamento físico é por meio da mudança na distribuição do tipo de suas fibras (Pette & Staron, 1997). As isoformas de MHC parecem representar atualmente o marcador mais apropriado de delineamento dos tipos de fibras (Spangenburg & Booth, 2003), sendo que as fibras do tipo I, IIA, IID/IIX e IIB expressam isoformas de miosina dos tipos MHCI, MHCIIa, MHCII d/x, MHCIIb, respectivamente (Dal Pai Silva & Carvalho, 2007). O tipo do exercício tem um importante impacto na distribuição das isoformas de MHC e na transição do tipo de fibra muscular (Liu *et al.*, 2003). Em resposta ao treinamento de força, especificamente, observa-se aumento na proporção de fibras musculares do tipo II e diminuição nas fibras musculares do tipo I (Green *et al.*, 1998; Williamson *et al.*, 2001). Pousson *et al.* (1991) observaram diminuição nas fibras do tipo I e aumento do tipo II, no músculo sóleo de ratos, após um programa de exercício de salto.

Neste sentido, os resultados do presente estudo mostram que, na quinta semana do protocolo, os animais treinados apresentaram aumento no conteúdo de MHCIIA e diminuição no conteúdo de MHCI no músculo sóleo, em relação aos animais não treinados. Nossos dados corroboram o estudo de Aguiar *et al.* (2010) os quais mostraram que, em

resposta ao protocolo de treinamento físico utilizado no presente estudo, houve aumento da isoforma MHCII e diminuição da MHCI no músculo sóleo de ratos, após cinco semanas de treinamento. Em humanos também já foi observado aumento no conteúdo de MHCIIA com concomitante diminuição no conteúdo de MHCI no músculo vasto lateral, em resposta a um protocolo de exercício diário de levantamento de peso de alta intensidade (Liu *et al.*, 2003). Visto que, em resposta ao treinamento de força espera-se aumento na proporção de fibras musculares do tipo II e diminuição nas fibras musculares do tipo I (Green *et al.*, 1998; Williamson *et al.*, 2001), e que a mudança na proporção das isoformas de MHC precede a modulação no tipo de fibra (Harber *et al.*, 2004), nossos resultados estão de acordo com a resposta esperada para a fibra muscular decorrente deste tipo de treinamento. Tal resposta adaptativa é de extrema importância funcional pelo fato de permitir maior capacidade do músculo de suportar o aumento da carga durante as sessões de treinamento (Aguilar *et al.*, 2010). Portanto, embora o protocolo de treinamento empregado não tenha sido eficaz no desenvolvimento da hipertrofia muscular, ou seja, em aumentar a síntese de proteína, ele foi capaz de iniciar a alteração no tipo da proteína já presente no músculo, resposta essa caracterizada pela alteração na isoforma de MHC.

Em suma, o presente estudo mostrou que o protocolo de treinamento utilizado é predominantemente anaeróbio, mantendo este perfil durante as cinco semanas de treinamento físico. Tal protocolo promoveu adaptação no que se refere à concentração sérica da CK, pois houve diminuição da mesma no grupo treinado. Além disso, o protocolo de exercício físico utilizado apresenta-se como um estímulo estressor para os animais, manifestado pelo aumento nos níveis plasmáticos de corticosterona nos animais treinados. Com relação às respostas musculares ao protocolo, observou-se diminuição da ASTFM do músculo sóleo a partir da terceira semana, e ausência de alteração na ASTFM do músculo EDL em todas as semanas, no grupo treinado comparado com o grupo não treinado. Observou-se ainda diminuição de MHCI e aumento de MHCIIA na quinta semana, no músculo sóleo desses animais.

6. CONCLUSÃO

Os resultados encontrados no presente estudo indicam que o protocolo de treinamento físico por saltos em água com sobrecarga é predominantemente anaeróbio e, por isso o mesmo pode ser útil para o desenvolvimento de novas pesquisas que tenham como objetivo estudar o efeito deste tipo de exercício sob as mais diversas condições experimentais. Além disso, tal protocolo de exercício físico apresenta-se como um estímulo estressor para os animais. O presente estudo mostrou também que, quando este tipo de treinamento físico é realizado diariamente, sem respeitar o intervalo de recuperação entre as sessões, não ocorre hipertrofia muscular em resposta ao mesmo. Entretanto, o protocolo promove adaptações no que diz respeito às respostas de lesão muscular (CK) e ao delineamento dos tipos de fibras musculares (MHCs), permitindo maior capacidade do músculo em suportar o aumento da carga durante as sessões de treinamento.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS*

- Aguiar AF, Aguiar DH, Felisberto ADS, Carani FR, Milanezi RC, Padovani CR *et al.* Effects of creatine supplementation during resistance training on myosin heavy chain (MHC) expression in rat skeletal muscle fibers. *J Strength Cond Res.* 2010; 24(1): 88-96.
- American Academy of Pediatrics. Adolescents and anabolic steroids: A subject review. *Pediatrics.* 1997; 99(6): 904-8.
- Antunes Neto JMF, Pereira-da-Silva L, Macedo DV. Proteínas de estresse “HSP70” atuam como marcadoras de estresse oxidativo em ratos wistar submetidos a treinamento intermitente de corrida para indução de overreaching. *Braz J Biom.* 2008; 2(3):160-75.
- Baker SK, McCullagh KJA , Bonen A. Training intensity-dependent and tissue-specific increases in lactate uptake and MCT1 in heart and muscle. *J Appl Physiol.* 1998; 84(3): 987-94.
- Balnave CD, Thompson MW. Effect of training on eccentric exercise-induced muscle damage. *J Appl Physiol.* 1993; 75(4): 1545-51.
- Bar A, Pette D. Three fast myosin heavy chains in adult rat skeletal muscle. *FEBS Lett* 235: 153-5, 1988.
- Beneke R, Hutler M, Leithauser RM. Maximal lactate-steady-state independent of performance. *Med Sci Sports Exerc.* 2000; 32(6):1135-9.
- Bertuzzi RCM, Silva AEL, Abad CCC, Pires FO. Metabolismo do lactato: uma revisão sobre a bioenergética e a fadiga muscular. *Rev Bras Cineantropom Desempenho Hum.* 2009; 11(2): 226-34.
- Bonen A. Lactate transporters (MCT proteins) in heart and skeletal muscles. *Med Sci Sports Exerc.* 2000; 32(4): 778-89.
- Bourgeois J, MacDougall D, MacDonald J, Tarnopolsky M. Naproxen does not alter indices of muscle damage in resistance-exercise trained men. *Med Sci Sports Exerc.* 1999; 31(1): 4-9.

* De acordo com a norma da UNICAMP/FOP, baseadas na norma do International Committee of Medical Journal Editor – Grupo de Vancouver. Abreviatura dos periódicos em conformidade com o Medline.

- Brancaccio P, Maffulli N, Limongelli FM. Creatine kinase monitoring in Sport medicine. *Br Med Bull.* 2007; 81-82(1): 209-30.
- Bret C, Messonnier L, Nouck Nouck JM, Freund H, Dufour AB, Lacour JR. Differences in lactate exchange and removal abilities in athletes specialised in different track running events. *Int J Sports Med.* 2003; 24(2): 108-13.
- Brooks GA. Intra- and extra-cellular lactate shuttles. *Med Sci Sports Exerc.* 2000; 32(4): 790-9.
- Campos GER, Luecke TJ, Wendeln HK, Toma K, Hagerman FC, Murray TF *et al.* Muscular adaptations in response to three different resistance-training regimens: specificity of repetition maximum training zones. *Eur J Appl Physiol.* 2002; 80: 50-60.
- Caputo F, Machado RS, Lucas RD, Denadai BS. Efeito de oito semanas de treinamento de natação no limiar anaeróbio determinado na piscina e no ergômetro de braço. *Rev Bras Med Esporte.* 2002; 8(1): 7-12.
- Cavalcante WLG, Dal Pai-Silva M, Gallacci M. Effects of nandrolone decanoate on the neuromuscular junction of rats submitted to swimming. *Comp Biochem Physiol (Pt C).* 2004; 139(4): 219-24.
- Clarkson PM, Tremblay I. Exercise-induced muscle damage, repair and adaptation in humans. *J Appl Physiol.* 1988; 65(1): 1-6.
- Clarkson PM, Nosaka K, Braun B. Muscle function after exercise-induced muscle damage and rapid adaptation. *Med Sci Sports Exerc.* 1992; 24(5): 512-20.
- Clarkson PM, Hubal MJ. Exercise-induced muscle damage in humans. *Am J Phys Med Rehabil.* 2002; 81(11): 52-69.
- Clebis NK, Natali MRM. Lesões musculares provocadas por exercícios excêntricos. *Rev Bras Ciên e Mov.* 2001; 9(4): 47-53.
- Coleman MA, Garland T Jr, Marler CA, Newton SS, Swallon JG, Carter PA. Glucocorticoid response to forced exercise in laboratory house mice (*Mus domesticus*). *Physiol Behav.* 1998; 63(2): 279-85.
- Costa HA, Valim-Rogatto PC, Rogatto GP. Influência da especificidade do treinamento resistido sobre aspectos funcionais e antropométricos de homens jovens. *Motriz.* 2007; 13(4): 288-97.

- Cunha TS, Cunha NS, Moura MJCS, Marcondes FK. Esteróides anabólicos e a prática desportiva. *Braz J Pharmac Sci.* 2004; 40(1):165-79.
- Cunha TS, Tanno AP, Moura MJCS, Marcondes FK. Influence of high-intensity exercise training and anabolic androgenic steroid treatment on rat tissue glycogen content. *Life Sci.* 2005a; 77(9): 1030-43.
- Cunha TS, Moura MJCS, Bernardes CF, Tanno AP, Marcondes FK. Vascular sensitivity to phenylefrine in rats submitted to anaerobic training and nandrolone treatment. *Hypertension.* 2005b; 46(2): 1-6.
- Cunha TS, Tanno AP, Marcondes FK, Perez SEA, Selistre-Araújo HS. A administração de nandrolona não promove hipertrofia do músculo sóleo em ratos. *Arq Bras Endocrinol Metab.* 2006; 50(3): 532-40.
- Dal Pai-Silva M, Carvalho RF. Mecanismos celulares e moleculares que controlam o desenvolvimento e o crescimento muscular. *R Bras Zootec.* 2007; 36: 21-31.
- D'Antona G, Lanfranconi F, Pellegrino MA, Brocca L, Adami R, Rosso R, *et al.* Skeletal muscle hypertrophy and structure and function of skeletal muscle fibres in male body builders. *J Physiol.* 2006; 570(Pt 3): 611-27.
- Dela Cruz C. Efeito do exercício físico e do decanoato de nandrolona sobre os órgãos da reprodução e musculatura estriada esquelética de ratos machos adultos. [dissertação]. Botucatu: UNESP/IB; 2008.
- Deschenes MR, Kraemer WJ. Performance and physiologic adaptations to resistance training. *Am J Phys Med Rehabil.* 2002; 81(11): 3-16.
- Donavan CM, Brooks GA. Endurance training affects lactate clearance, not lactate production. *Am J Physiol.* 1983; 244(7): 83-92.
- Donavam CM, Pagliassotti MJ. Enhanced efficiency of lactate removal after endurance training. *J Appl Physiol.* 1990; 68(3): 1053-8.
- Ebbeling CB, Clarkson PM. Muscle adaptation prior to full recovery following eccentric exercise. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol.* 1990; 60(1):26-31.
- Evans NA. Current concepts in anabolic-androgenic steroids. *Am J Sport Med.* 2004; 32(2): 534-42.

- Ferreira LDMCB, Brau L, Nikolovski S, Raja G, Palmer TN, Fournier PA. Effect of streptozotocin-induced diabetes on glycogen resynthesis in fasted rats post-high-intensity exercise. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2001; 280: 83-91.
- Ferreira LDMCB, Xu D, Palmer TN, Fournier PA. Effect of impaired glucose uptake on postexercise glycogen repletion in skeletal muscle of insulin-treated streptozotocin-diabetic fasted rats. *Metabolism.* 2005; 54(11): 1420-7.
- Fortunato RS, Rosenthal D, De Carvalho DP. Abuso de esteróides anabolizantes e seu impacto sobre a função tireóidea. *Arq Bras Endocrinol Metab.* 2007; 51(9): 1417-24.
- Foschini D, Prestes J, Charro MA. Relação entre exercício físico, dano muscular e dor muscular de início tardio. *Rev Bras Cineantropom Desempenho Hum.* 2007; 9(1): 101-6.
- Fournier PA, Brau L, Ferreira LDMCB, Fairchild T, Raja G, James A *et al.* Glycogen resynthesis in the absence of food ingestion during recovery from moderate or high intensity physical activity: novel insights from rat and human studies. *Comp Biochem Physiol A.* 2002; 133(3): 755-63.
- Galdino RS, Souza CCA, Luciano E, Mello MAR. Protein calorie malnutrition does not impair glucose metabolism adaptations to physical exercise. *Nutr Res.* 2000; 20(4): 527-35.
- Gibson MC, Schultz E. Age-related differences in absolute numbers of skeletal muscle satellite cells. *Muscle Nerve.* 1983; 6(8): 574-80.
- Gobatto CA, Sibuya CY, Azevedo JRM, Luciano E, Kokubun E, De Mello MAR. Caracterização da intensidade de exercício e do efeito de treinamento físico no modelo de natação de ratos wistar. *Motriz.* 2001a; 7(1): 57-62.
- Gobatto CA, De Mello MA, Sibuya CY, Azevedo JRM, Santos LA, Kokubun E. Maximal lactate steady state in rats submitted to swimming exercise. *Comp Biochem Physiol (Pt A).* 2001b; 130(1): 21-27.
- Green H, Goreham C, Ouyang J, Ball-Burnett M, Raney D *et al.* Regulation of fiber size, oxidative potential, and capillarization in human muscle by resistance exercise. *Am J Physiol.* 1998; 276(2 Pt 2): 591-6.
- Greenhaff PL, Timmons JA. Interaction between aerobic and anaerobic metabolism during intense muscle contraction. *Exerc Sports Sci Rev.* 1998; 26(1): 1-30.

- Guzzoni V. Efeitos vasculares do esteróide anabólico nandrolona em ratos submetidos a treinamento físico resistido de alta intensidade. [dissertação]. Piracicaba: FOP/UNICAMP; 2011.
- Harber MP, Fry AC, Rubin MR, Smith JC, Weiss LW. Skeletal muscle and hormonal adaptations to circuit weight training in untrained men. *Scand J Med Sci Sports*. 2004; 14(3): 176-85.
- Heinemeier KM, Olesen JL, Haddad F, Lanfberg H, Kjaer M, Baldwin KM *et al*. Expression of collagen and related growth factors in rat tendon and skeletal muscle in response to specific contraction types. *J Physiol*. 2007; 582(Pt 3): 1303-16.
- Holson, RR. Euthanasia by decapitation: evidence that this technique produces prompt, painless unconsciousness in laboratory rodents. *Neurotoxicol Teratol*. 1992; 14(4): 253-7.
- Hug M, Mullis PE, Vogt M, Ventura N, Hoppeler H. Training modalities: over-reaching and over-training in athletes, including a study of the role of hormones. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 2003; 17(2): 191-209.
- Iriart JAB, Andrade TM. Musculação, uso de esteróides anabolizantes e percepção de risco entre jovens fisiculturistas de um bairro popular de Salvador, Bahia, Brasil. *Cad Saúde Pública*. 2002; 18(5): 1379-87.
- Irving LM, Wall M, Newmark-Sztainer D, Story M. Steroid use among adolescents: Finding from project EAT. *J Adolesc Health*. 2002; 30(4): 243-52.
- Juel C, Klarskov C, Nielsen JJ, Krstrup P, Mohr M, Bangsbo J. Effect of high-intensity intermittent training on lactate and H⁺ release from human skeletal muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2003; 286(2): 245-51.
- Katula JÁ, Rejeski WJ, Marsh AP. Enhancing quality of life in older adults: A comparison of muscular strength and power training. *Health and Quality of Life Outcomes*. 2008; 6(45): 1-8.
- Kiens B, Richter EA. Utilization of skeletal muscle triacylglycerol during postexercise recovery in humans. *Am J Physiol*. 1998; 275(2 Pt 1): 332-7.
- Kimber NE, Heigenhauser GJ, Spriet LL, Dyck DJ. Skeletal muscle fat and carbohydrate metabolism during recovery from glycogen-depleting exercise in humans. *J Physiol*. 2003; 548(Pt 3): 919-27.

- Kjaer M. Role of extracellular matrix in adaptation of tendon and skeletal muscle to mechanical loading. *Physiol Rev.* 2004; 84(2): 649-98.
- Kraemer WJ, Ratamess NA. Fundamentals of resistance training: progression and exercise prescription. *Med Sci Sports Exerc.* 2004; 36(4): 674-688.
- Kyrolainen H, Avela J, Mc Bride JM, Koskien S, Andersen JL, Sipila S *et al.* Effects of power training on muscle structure and neuromuscular performance. *Scand J Med Sci Sports.* 2005; 15: 58-64.
- Lamas L, Ugrinowitsch C, Campos GER, Aoki MS, Fonseca R, Regazzini *et al.*, Treinamento de força máxima X treinamento de potência: alterações no desempenho e adaptações morfológicas. *Rev Bras Educ Fis Esp.* 2007; 21(4): 331-40.
- Lavender AP, Nosaka K. A light load eccentric exercise confers protection against a subsequent bout of more demanding eccentric exercise. *J Sci Med Sport.* 2008; 11(3): 291-8.
- Leal ML, Lamas L, Aoki MS, Ugrinowitsch C, RamosMSC, Tricoli V *et al.* Effect of different resistance-training regimens on the WNT-signaling pathway. *Eur J Appl Physiol*; 2011; DOI: 10.1007/s00421-011-1874-7.
- Liu Y, Lormes W, ReiBnecker S, Steinacker JM. Effects of high intensity resistance and low intensity endurance training on myosin heavy chain isoform expression in highly trained rowers. *Int J Sports Med.* 2003; 24: 264-70.
- Mackinnon LT, Hooper SL, Jones S, Gordon RD, Bachmann AW. Hormonal, immunological, and hematological responses to intensified training in elite swimmers. *Med Sci Sports Exerc.* 1997; 29(12):1637-45.
- Malisoux L, Francaux M, Nielens H, Theisen D. Stretch-shortening cycle exercise: an effective training paradigm to enhance power output of human single muscle fibers. *J Appl Physiol.* 2006; 100(3): 771-9.
- Marquetti RC, Parizotto NA, Chrighuer RS, Perez SEA, Selistre-de-Araújo HS. Androgenic-anabolic steroids associated with mechanical loading inhibit matrix metalloproteinase activity and affect the remodeling of the achilles tendon in rats. *Am J Sports Med.* 2006; 34(8): 1274-80.

- Marquezi ML, Roschel HA, dos Santa Costa AS, Sawada LA, Lancha AH Jr. Effect of aspartate and asparagine supplementation on fatigue determinants in intense exercise. *Int J Sports Nutr Exerc Metab.* 2003; 13(1): 65-75.
- McClung JM, Mehl KA, Thompson RW, Lowe LL, Carson JA. Nandrolone decanoate modulates cell cycle regulation in functionally overloaded rat soleus muscle. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2005; 288(6): 1543-52.
- McHugh MP. Recent advances in the understanding of the repeated bout effect: the protective effect against muscle damage from a single bout of eccentric exercise. *Scand J Med Sci Sports.* 2003; 13(2):88-97.
- Medbo JJ. Glycogen breakdown and lactate accumulation during high-intensity cycling. *Acta Physiol Scand.* 1993; 149(1):85-9.
- Menzies P, Menzies C, McIntyre L, Paterson P, Wilson J, Kemi OJ. Blood lactate clearance during recovery after intense running bouts depends on the intensity of the active recovery. *J Sports Sci.* 2010; 28(9):975-82.
- Moore DR, Phillips SM, Babraj JA, *et al.* Myofibrillar and collagen protein synthesis in human skeletal muscle in young men after maximal shortening and lengthening contractions. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2005; 288(6): 1153-9.
- Murakami T, Shimomura Y, Fulitsuka N, Sokabe M, Okamura K, Sakamoto S. Enlargement of glycogen store in rat liver and muscle by fructose-diet intake and exercise training. *J Appl Physiol.* 1997; 82(3): 772-5.
- Newham DJ, Jones DA, Clarkson PM. Repeated high-force eccentric exercise: effects on muscle pain and damage. *J Appl Physiol.* 1987; 63(4):1381-6.
- Nikolovski S, Faulkner DL, Palmer TN, Fournier PA. Muscle glycogen repletion from endogenous carbon sources during recovery from high intensity exercise in the fasted rat. *Acta Physiol Scand.* 1996; 157(4): 427-34.
- Nosaka K, Clarkson PM. Effect of eccentric exercise on plasma enzyme activities previously elevated by eccentric exercise. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol.* 1994; 69(6): 492-7.
- Nosaka K, Sakamoto K, Newton M, Sacco P. The repeated bout effect of reduced-load eccentric exercise on elbow flexor muscle damage. *Eur J Appl Physiol.* 2001; 85(1-2): 34-40.

- Nosaka K, Newton M. Repeated eccentric exercise bouts do not exacerbate muscle damage and repair. *J Strength Cond Res.* 2002; 16(1):117-22.
- Oliva OJ. Possíveis lesões musculares e ou articulares causadas por sobrecarga na prática da musculação. *Rev Bras Ativ Fís Saúde.* 1998; 3(3): 15-23.
- Paddon-Jones D, Muthalib M, Jenkins D. The effects of a repeated bout of eccentric exercise on indices of muscle damage and delayed onset muscle soreness. *J Sci Med Sport.* 2000; 3(1): 35-43.
- Paul GL, Delany JP, Snook JT, Seifert JG, Kirby TE. Serum and urinary markers of skeletal muscle tissue damage after weight lifting exercise. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol.* 1989; 58(7): 786-90.
- Peijie C, Hongwu L, Fengpeng X, Jie R, Jie Z. Heavy load exercise induced dysfunction of immunity and neuroendocrine responses in rats. *Life Sci.* 2003; 72(20): 2255-62.
- Pereira B, Costa-Rosa LFB, Safi DA, Medeiros MHG, Curi R, Bechara EJH. Superoxide desmutase, catalase and glutathioneperoxidase activities in muscle and lymphoid organs of sedentary and exercise-trained rats. *Physiol Behav.* 1994; 56(5): 1095-99.
- Pereira RMR, Freire de Carvalho J. Glucocorticoid-induced myopathy. *Joint Bone Spine.* 2011; 78(1): 41-4.
- Pereira OCM, Micheloto FHM, Dal Pai-Silva M, Agati LB. Muscle fiber modulation and other effects of nandrolone decanoate and high-intensity resistance exercise in rats. *Trends in Comp Biochem Physiol.* 2009; 14: 9-15.
- Pette D, Staron RS. Mammalian skeletal muscle fiber type transition. *Int Rev Cytol.* 1997; 170:143-223.
- Pette D, Staron RS. Transitions of muscle fiber phenotypic profiles. *Histochem Cell Biol.* 2001; 115(5): 359-72.
- Pilegaard H, Domino K, Noland T, Juel C, Hellsten Y, Halestrap AP *et al.* Effect of high-intensity exercise training on lactate/H⁺ transport capacity in human skeletal muscle. *Am J Physiol.* 1999; 276(2 Pt 1): 255-61.
- Pousson M, Pérot C, Goubel F. Stiffness changes and fibre type transitions in rat soleus muscle produced by jumping training. *Pflugers Arch.* 1991; 419(2): 127-30.

- Prada FJA, Voltarelli FA, Oliveira CAM, Gobatto CA, Macedo DV, de Mello MAR. Condicionamento aeróbio e estresse oxidativo em ratos treinados por natação em intensidade equivalente ao limiar anaeróbio. *R Bras Ci e Mov.* 2004; 12(2): 29-34.
- Raja G, Brau L, Palmer TN, Fournier PA. Repeated bouts of high-intensity exercise and muscle glycogen sparing in the rat. *J Exp Biol.* 2003; 206(Pt 13): 2159-66.
- Renno AC, Silveira Gomes AR, Nascimento RB, Salvini T, Parizoto N. Effects of a progressive loading exercise program on the bone and skeletal muscle properties of female osteopenic rats. *Exp Gerontol.* 2007; 42(6): 517-22.
- Rogatto GP, Luciano E. Influência do treinamento físico intenso sobre o metabolismo de proteínas. *Motriz.* 2001a; 7(2): 75-82.
- Schiaffino S, Reggiani C. Myosin isoforms in mammalian skeletal muscle. *J Appl Physiol.* 1994; 77(2): 493-501.
- Schneider CM, Dennehy CA, Rodearmel SJ, Hayward JR. Effects of physical activity on creatine phosphokinase and the isoenzyme creatine kinase-MB. *Ann Emerg Med.* 1995; 25(4): 520-4.
- Secchi KV, Morais CP, Cimatti PF, Tokars E, Gomes ARS. Efeito do alongamento e do exercício contra-resistido no músculo esquelético de rato. *Rev Bras Fisioter.* 2008; 12(3): 228-34.
- Simões HG, Campbell CSG, Baldissera V, Denadai BS, Kokubin E. Determinação do limiar anaeróbio por meio de dosagens glicêmicas e lactacidêmicas em teste de pista para corredores. *Rev Paul Educ Fis.* 1998; 12(1): 17-30.
- Spangenburg EE, Booth FW. Molecular regulation of individual skeletal muscle fibre types. *Acta Physiol Scand.* 2003; 178(4): 413-24.
- Talmadge RJ, Roy RR, Edgerton VR. Muscle fiber types and function. *Curr Opin Rheumatol.* 1993; 5(6): 695-705.
- Tamaki T, Uchiyama S, Uchiyama Y, Akatsuka A, Roy RR, Edgerton VR. Anabolic steroids increase exercise intolerance. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2001; 280(6): 973-81.
- Tanno AP, Cunha TS, Moura MJC, Marcondes FK. Relationship between high intensity exercise and blood lactate in rats. *Saúde em Revista.* 2006; 8: 23-9.

- Tanno AP. Alterações cardíacas induzidas por esteróide anabólico androgênico em ratos sedentários e treinados. [tese]. Campinas: UNICAMP/IB; 2007.
- Tassi EMM, Amaya-Farfan J, Azevedo JRM. Hydrolized alpha albumin as a source of protein to the exercising. *Nutr Res.* 1998; 18(5): 875-81.
- Thein LA, Thein JM, Landry GL. The ergogenic aids. *Physical Therapy.* 1995; 75(5): 426-39.
- Thomas C, Perrey S, Lambert K, Hugon G, Mornet D, Mercier J. Monocarboxylate transporters, blood lactate removal after supramaximal exercise, and fatigue indexes in humans. *J Appl Physiol.* 2005; 98(3): 804-9.
- Trump ME, Heigenhauser GJ, Putman CT, Spriet LL. Importance of muscle phosphocreatine during intermittent maximal cycling. *J Appl Physiol.* 1996; 80(5): 1574-80.
- Tschopp M, Sattelmayer MK, Hilfiker. Is power training or conventional resistance training better for function in elderly persons? A meta-analysis. *Age and Ageing.* 2011; DOI: 10.1093/ageing/afr005.
- Vahl TP, Ulrich-Lai YU, Ostrander MM, Dolgas CM, Elfers EE, Seeley RJ *et al.* Comparative analysis of ACTH and corticosterone sampling methods in rats. *Am J Endocrinol Metab.* 2005; 289(5): 823-28.
- Vanderwolf CH, Buzsaki G, Cain DP, Cooley RK, Robertson B. Neocortical and hippocampal electrical activity following decapitation in the rat. *Brain Res.* 1988; 451(1-2): 340-4.
- Yoshioka M, Doucet E, St-Pierre S, Almeras N, Richard D, Labrie A *et al.* Impact of high-intensity exercise on energy expenditure, lipid oxidation and body fatness. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 2001; 25(3): 332-9.
- Wahren J. Glucose turnover during exercise in healthy man and in patients with diabetes mellitus. *Diabetes.* 1979; 28(1): 82-8.
- Williamson DL, Gallagher PM, Carroll CC, Raue U, Trappe SW. Reduction in hybrid single muscle fiber proportions with resistance training in humans. *J Appl Physiol.* 2001; 91(5): 1955-61.
- Winett RA, Carpinelli RN. Potencial health-related benefits of resistance training. *Prev Med.* 2001; 33: 503-13



Universidade Estadual de Campinas
Instituto de Biologia



CEEA-IB-UNICAMP

Comissão de Ética na Experimentação Animal
CEEA-IB-UNICAMP

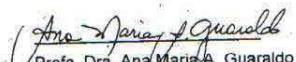
CERTIFICADO

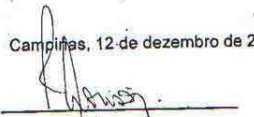
Certificamos que o Protocolo nº 944-1, sobre "RESPOSTAS CARDIOVASCULARES AO ESTERÓIDE ANABÓLICO NANDROLONA, ASSOCIADO A TREINAMENTO FÍSICO ANAERÓBICO" sob a responsabilidade de Profa. Dra. Fernanda Klein Marcondes está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), tendo sido aprovado pela Comissão de Ética na Experimentação Animal (CEEA)-IB-UNICAMP em reunião de 12 de dezembro de 2005.

CERTIFICATE

We certify that the protocol nº 944-1, entitled "CARDIOVASCULAR RESPONSES TO THE ASSOCIATION BETWEEN THE TREATMENT WITH ANDROGENIC ANABOLIC STEROID AND ANAEROBIC PHYSICAL TRAINING", is in agreement with the Ethical Principles for Animal Research established by the Brazilian College for Animal Experimentation (COBEA). This project was approved by the institutional Committee for Ethics in Animal Research (State University of Campinas - UNICAMP) on December 12, 2005.

Campinas, 12 de dezembro de 2005.


Profa. Dra. Ana Maria A. Guaraldo
Presidente - CEEA/IB/UNICAMP


Fátima Ajonso
Secretária - CEEA/IB/UNICAMP

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
INSTITUTO DE BIOLOGIA
CIDADE UNIVERSITÁRIA ZEPERINO VAZ
CEP-13.081-970 - CAMPINAS - SP - BRASIL

TELEFONE 55 19 3788-0359
FAX 55 19 32893124