



MARIA CECÍLIA BUENO JAYME GALLANI

**EFEITO DO EXERCÍCIO AGUDO DE NATAÇÃO E DO
ÁCIDO ASCÓRBICO SOBRE VARIÁVEIS BIOQUÍMICAS
DE COBAIAS SEDENTÁRIAS E TREINADAS**

Este exemplar corresponde à redação final
da tese defendida pelo(s) candidato(a)
Maria Cecília Bueno
Jayme Gallani
e aprovada pela Comissão Julgadora.

07/02/75

R. Emeris Maia

CAMPINAS - SP

1995



17/02/75

MARIA CECÍLIA BUENO JAYME GALLANI

**EFEITO DO EXERCÍCIO AGUDO DE NATAÇÃO E DO
ÁCIDO ASCÓRBICO SOBRE VARIÁVEIS BIOQUÍMICAS
DE COBAIAS SEDENTÁRIAS E TREINADAS**

Dissertação apresentada ao Instituto de
Biologia da Universidade Estadual de
Campinas para obtenção do título de
Mestre em Biologia - Área de Fisiologia

Orientador: Prof. Dr. Rui Errerias Maciel

CAMPINAS - SP

1995

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA CENTRAL - UNICAMP**

Gallani, Maria Cecília Bueno Jayme

**Efeito do exercício físico e da suplementação de vitamina C
sobre variáveis bioquímicas de cobaias sedentárias e treinadas
/ Maria Cecília Bueno Jayme Gallani. – Campinas, SP : [s.n.],
1995**

Orientador: Rui Errerias Maciel.

**Dissertação (mestrado)-Universidade Estadual de Campinas.
Instituto de Biologia.**

**1. Exercícios físicos. 2. Vitamina C. 3. Glicogênio. 4. Lactatos
5. Histamina. I. Maciel, Rui Errerias. II. Universidade Estadual de
Campinas. Instituto de Biologia. III. Título.**

Aos meus pais

Maria do Rosário e Frederico

pelo amor, carinho e apoio a mim dedicados,
com tanto desvelo, ao longo dos anos;

ao meu marido,

Neuair

que compartilhou tão junto de mim, todas as
fases desse trabalho, e que com seu apoio
me incentivou nos momentos mais difíceis; e,

ao meu filho

Diogo

por fazer tudo valer a pena,

com muito carinho,

dedico.

Ao Prof. Dr. Rui Errerias Maciel,
pela confiança, compreensão, incentivo e
orientação,

agradeço.

AGRADECIMENTOS

- Ao Prof. Dr. Sérgio de Moraes, pelo empréstimo do equipamento para dosagem de histamina;
- ao Prof. Dr. José Marta Filho, do Departamento de Estatística da UNESP - Campus de Bauru, pelo auxílio nas análises estatísticas;
- à toda a equipe do laboratório de Biodinâmica do Departamento de Educação Física da UNESP - Campus Rio de Claro, em especial ao biólogo José Roberto R. da Silva, à bioquímica Clarice Yoshico Sibuya e ao Prof. Dr. Francisco Pereira Santi, pelo valioso apoio técnico nas análises bioquímicas, realização de cortes histológicos e de fotografias;
- aos amigos Prof. Dr. José Roberto M. Azevedo e Prof. Claudio Alexandre Gobatto, cujas participações em todas as fases do experimento, foram críticas para seu desenvolvimento, tanto pelo profissionalismo quanto pela amizade, com que as realizaram;
- ao Prof. Dr. Carlos Alberto Anaruma pela grande ajuda na realização das fotomicrografias e análise histológica;
- à Profa. Dra. Maria Alice Rostom de Mello e ao Prof. Eduardo Kokubun, pelas discussões científicas e sugestões tão importantes na elaboração final desse trabalho;

- à Marília M. Sampaio Barros, pela amizade, ensinamentos e paciência dedicados durante esses anos de convivência;
- ao colega Eduardo Carlos Tonani e ao técnico Sr. Herval de Lara Almeida pelo auxílio em várias das etapas experimentais;
- a todos os professores e funcionários do Departamento de Fisiologia e Biofísica da UNICAMP, em especial a Sra. Aparecida da Silva Geraldo, Rosy Mary Geraldo, Srs. Léscio Domingos Teixeira, Francisco Leite e José Ribeiro (Zinho), que com muito carinho e amizade ajudaram e incentivaram muitas das etapas desse trabalho;
- à Andrea Redondano Pompeu Lavoura, pelo ombro amigo sempre presente, compartilhando conhecimento, carinho, amizade e fases da vida muito especiais;
- a Márcia, Marise e Verônica, pela amizade e companheirismo;
- ao Departamento de Fisiologia e Biofísica da UNICAMP, por proporcionar-nos a oportunidade de realizar essa dissertação de mestrado;
- ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e Fundação de Auxílio ao Ensino e Pesquisa (FAEP), pela concessão de bolsa de mestrado e auxílio à pesquisa, respectivamente; e,
- a todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram para a realização desse trabalho.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DAS PRINCIPAIS ABREVIATURAS	
LISTA DE TABELAS	
LISTA DE FIGURAS	
RESUMO	
1. INTRODUÇÃO	01
1.1 Exercício físico	04
1.1.1 Adaptações fisiológicas ao exercício agudo	06
1.1.1.1 Substratos energéticos	09
1.1.2 Efeitos fisiológicos do treinamento físico	15
1.1.2.1 Substratos energéticos	17
1.2 Ácido ascórbico	19
1.3 Histamina	27
1.3.1 Pequeno histórico	27
1.3.2 Classificação, origem, liberação e receptores	29
1.3.3 Efeitos sobre o sistema cardiovascular	32
1.3.4 Liberação em situações adversas	38
2. OBJETIVOS	41
3. MATERIAL E MÉTODOS	44
3.1 Animais	45
3.2 Grupos experimentais	46
3.3 Características do treinamento físico	47
3.4 Procedimento	50

3.5	Histologia	53
3.6	Determinação do conteúdo de ácido ascórbico	53
3.7	Determinação do conteúdo de glicogênio muscular	55
3.8	Determinação do conteúdo de glicogênio hepático	58
3.9	Determinação do conteúdo de lactato sanguíneo	58
3.10	Determinação do conteúdo de histamina	59
3.10.1	Ensaio Fluorimétrico	59
3.10.2	Cálculo da concentração de histamina	63
3.11	Tratamento estatístico	64
4.	RESULTADOS	66
4.1	Análises morfológicas e biométricas	67
4.1.1	Variação semanal do peso corpóreo	67
4.1.2	Músculo tríceps	75
4.2	Conteúdo de ácido ascórbico na glândula adrenal	78
4.3	Conteúdo de glicogênio muscular	80
4.4	Conteúdo de glicogênio hepático	83
4.5	Conteúdo de lactato sanguíneo	86
4.6	Conteúdo de histamina muscular	89
4.7	Conteúdo de histamina cardíaca	92
5.	DISCUSSÃO	95
5.1	Método de treinamento	96
5.2	Análises biométricas	98
5.2.1	Variação semanal do peso corpóreo	98
5.2.2	Diâmetro da secção transversa da fibra muscular	101

5.3 Ácido ascórbico	101
5.4 Substratos energéticos	102
5.5 Histamina	109
5.5.1 Histamina muscular	109
5.5.2 Histamina cardíaca	113
5.6 Considerações finais	119
6. CONCLUSÕES	122
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	124

ABSTRACT

LISTA DAS PRINCIPAIS ABREVIATURAS

AA	- ácido ascórbico, ascorbato, vitamina C
ACTH	- hormônio adrenocoticotrófico
AMP_c	- adenosina monofosfato cíclico
ATP	- adenosina trifosfato
CRF	- fator liberador de corticotrofina
F-2,6-P₂	- frutose 2,6 difosfato
FC	- frequência cardíaca
HA	- histamina
Nó AV	- nó átrio-ventricular
O₂	- oxigênio
PA	- pressão arterial
VO₂	- taxa de consumo de oxigênio
VO_{2máx}	- consumo máximo de oxigênio

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1.1 Conteúdo de histamina cardíaca em diferentes espécies de mamíferos	32
Tabela 3.1 Esquema dos períodos de adaptação e treinamento físico	48
Tabela 4.1 Variação semanal do peso corpóreo (em gramas) de cobaias sedentárias, com normo e hipervitaminose	69
Tabela 4.2 Variação semanal do peso corpóreo (em gramas) de cobaias treinadas, com normo e hipervitaminose.....	71
Tabela 4.3 Variação semanal do peso corpóreo (em gramas) de cobais sedentárias e treinadas	73
Tabela 4.4 Médias das áreas da secção transversal de fibras da cabeça longa do músculo tríceps de cobaias sedentárias e treinadas	75
Tabela 4.5 Concentração de ácido ascórbico ($\mu\text{g}/\text{mg}$) da glândula adrenal de cobaias sedentárias e treinadas, com normo e hipervitaminose	78

Tabela 4.6 Concentração de glicogênio muscular ($\mu\text{g}/\text{mg}$) de cobaias sedentárias e treinadas, com normo e hipervitaminose, sacrificadas em repouso e após exercício agudo de natação	81
Tabela 4.7 Concentração de glicogênio hepático ($\mu\text{g}/\text{mg}$) de cobaias sedentárias e treinadas, com normo e hipervitaminose, sacrificadas em repouso e após exercício agudo de natação	84
Tabela 4.8 Concentração de lactato sanguíneo (mM) de cobaias sedentárias e treinadas, com normo e hipervitaminose, sacrificadas em repouso ou após exercício agudo de natação	87
Tabela 4.9 Concentração de histamina ($\mu\text{g}/\text{g}$) do músculo tríceps de cobaias sedentárias e treinadas, com normo e hipervitaminose, sacrificadas em repouso ou após exercício agudo de natação.....	90
Tabela 4.10 Concentração de histamina ($\mu\text{g}/\text{g}$) do músculo cardíaco, de cobaias sedentárias e treinadas, com normo e hipervitaminose, sacrificadas em repouso ou após de exercício agudo de natação	93

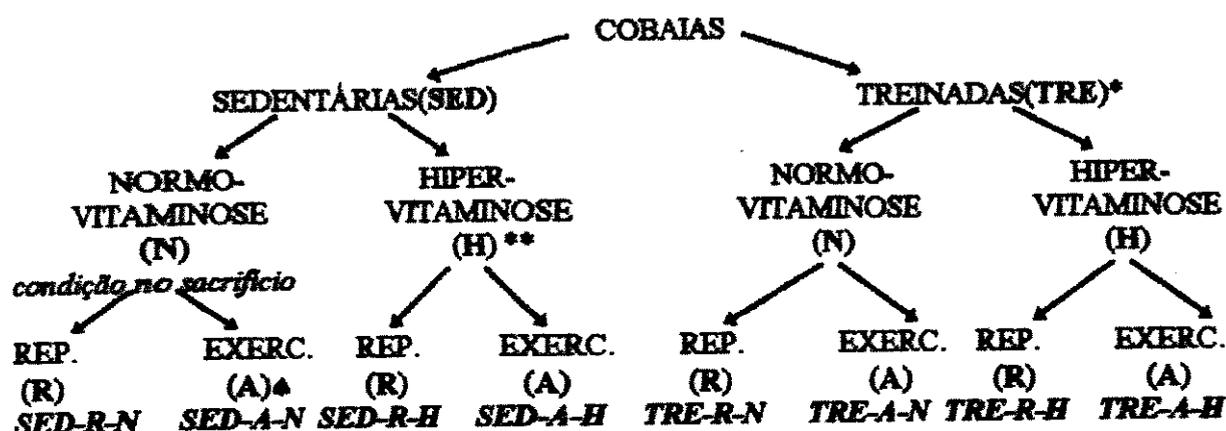
LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 3.1 Cobaias em exercício agudo de natação	49
Figura 3.2 Dissecção mostrando <i>in situ</i> : glândula adrenal e coração	51
Figura 3.3 Músculo tríceps, lobo inferior hepático, coração e glândula adrenal após extração	52
Figura 4.1 Variação semanal da massa corporal de cobaias sedentárias com normo e hipervitaminose	70
Figura 4.2 Variação semanal da massa corporal de cobaias treinadas com normo e hipervitaminose	72
Figura 4.3 Variação semanal da massa corporal de cobaias sedentárias e treinadas	74
Figura 4.4 Média das áreas da secção transversal de fibras da cabeça longado músculo tríceps de cobaias sedentárias e treinadas	76
Figura 4.5 Secção transversal de uma fibra da cabeça longa do músculo tríceps de cobaias sedentárias e treinadas	77
Figura 4.6 Conteúdo de ascorbato da glândula adrenal de cobaias sedentárias e treinadas, com normo e hipervitaminose	79

Figura 4.7 Conteúdo de glicogênio muscular de cobaias sedentárias e treinadas, com normo e hipervitaminose, sacrificadas em repouso e após exercício agudo de natação	82
Figura 4.8 Conteúdo de glicogênio hepático de cobaias sedentárias e treinadas com normo e hipervitaminose, sacrificadas em repouso e após exercício agudo de natação	85
Figura 4.9 Conteúdo de lactato sangüíneo de cobaias sedentárias e treinadas, com normo e hipervitaminose, sacrificadas em repouso e após exercício agudo de natação	88
Figura 4.10 Conteúdo histamínico do músculo tríceps de cobaias sedentárias e treinadas, com normo e hipervitaminose, sacrificadas em repouso e após exercício agudo de natação	91
Figura 4.11 Conteúdo histamínico do músculo cardíaco de cobaias sedentárias e treinadas, com normo e hipervitaminose, sacrificadas a partir do repouso e após exercício agudo de natação	94

RESUMO

Com o propósito de avaliarmos o efeito do exercício físico agudo e sob forma de treinamento e da suplementação de vitamina C sobre alguns parâmetros biométricos e variáveis bioquímicas, estipulamos um protocolo experimental para o qual utilizamos cobaias (*Cavia porcellus*) fêmeas, com 3 meses de idade, distribuídas de acordo com o seguinte esquema:



* seções diárias de 30 minutos de natação, em água com temperatura $34 \pm 1^\circ\text{C}$, durante 7 semanas

** administração oral de vitamina C (35 mg/Kg peso corpóreo)

♣ exercício agudo de 30 minutos de natação

Ao término do período experimental os animais foram sacrificados por decapitação e feitas as determinações das variáveis: ascorbato, glicogênio, lactato e histamina. Foram realizadas também análise histológica do músculo tríceps anterior e biométrica (massa corporal). Nossos resultados demonstraram as seguintes diferenças significativas ($p \leq 0.05$): 1. aumento ($\cong 65\%$) da área transversal das fibras musculares do grupo TRE; 2. aumento do ascorbato na glândula adrenal nos subgrupos SED-R-H (vs SED-R-N), TRE-R-H (vs TRE-R-N); 3. depleção de glicogênio muscular nos subgrupos SED-A-N (vs SED-R-N); SED-A-H (vs SED-R-H), e do glicogênio hepático nos subgrupos SED-R-H (vs SED-R-N), SED-A-N

(vs SED-R-N); 4. menor depleção do glicogênio muscular no subgrupos TRE-A-N (vs SED-A-N), TRE-A-H (vs SED-A-H); 5. aumento do glicogênio hepático no subgrupo TRE-R-H (vs SED-R-H); 6. aumento do lactato nos subgrupos SED-A-N (vs SED-R-N), SED-A-H (vs SED-R-H) e menor aumento do lactato no subgrupo SED-A-H (vs SED-A-N); 7. menor elevação do lactato nos subgrupos TRE-A-N (vs SED-A-N), TRE-A-H (vs SED-A-H); 8. aumento da histamina muscular e cardíaca nos subgrupos SED-A-N (vs SED-R-N), SED-A-H (vs SED-R-H) e TRE-A-H (vs TRE-R-H)- este último só para histamina cardíaca; 9. menor aumento da histamina muscular no subgrupo TRE-A-N (vs SED-A-N), e histamina cardíaca no SED-A-H (vs SED-A-N); 10. diminuição da histamina cardíaca no subgrupo SED-R-H (vs SED-R-N). A partir desses resultados concluímos que: A. houve hipertrofia muscular nos animais treinados; B. a suplementação oral de vitamina C induziu a uma hipervitaminose efetiva; C. a intensidade do exercício agudo foi suficiente para induzir modificações nos substratos energéticos e nos níveis de histamina; D. o treinamento físico induziu a uma maior preservação do glicogênio muscular e hepático e a menor produção de lactato sanguíneo em animais submetidos ao exercício agudo; E. o treinamento físico pode prevenir ou diminuir a elevação da histamina muscular e cardíaca nos animais submetidos ao exercício agudo, e F. o ácido ascórbico interferiu nos valores absolutos de alguns substratos energéticos e da histamina muscular e cardíaca. Finalmente, sugerimos que (i) o protocolo de treinamento físico utilizado foi adequado de modo a produzir adaptações fisiológicas, (ii) o treinamento físico através da diminuição da produção e/ou liberação de histamina em situações de estresse poderia minimizar os efeitos indesejáveis dessa amina, que embora pareça participar da homeostase cardiovascular, pode resultar em efeitos deletérios quando em excesso; e (iii) seria interessante que estudos sequenciais sobre suplementação de vitamina C

fossem desenvolvidos, possibilitando o conhecimento mais acurado de seus possíveis efeitos e sua repercussão sobre o metabolismo energético, além de estudos envolvendo a análise da *funcionalidade* dos receptores histaminérgicos nas condições de estresse, para uma maior compreensão dos efeitos dessa substância em situações adversas.

I - INTRODUÇÃO

1- INTRODUÇÃO

O modo como os organismos reagem às mais adversas condições fascina o homem, podemos dizer, desde que foi possível pressentir a importância da existência de mecanismos controladores e adaptativos para a interrelação dos seres vivos com o meio que os cerca, bem como para sua sobrevivência. O nível de compreensão acerca desses fenômenos sempre esteve intimamente relacionado ao padrão de conhecimento vigente em cada época.

Um dos conceitos mais importantes, que vem nortecendo os estudos no campo da fisiologia, começou a surgir no século XIX, com o grande fisiologista Claude Bernard, que definiu a existência de um meio interno (*milieu*

intérieur), fornecedor de elementos essenciais para a célula e responsável pela manutenção da vida celular. A idéia sobre a necessidade de existência de um equilíbrio interno como condição *sine qua non* para a sobrevivência celular foi aperfeiçoada por Cannon, já no século XX, com a determinação do conceito de **homeostasia** - tendência do organismo em manter uma certa constância (dentro de limites fisiológicos relativamente estreitos) de determinadas variáveis, mesmo em vigência de alterações ambientais significativas (BERNE, LEVI, 1990).

Em outras palavras, a homeostasia seria representativa do equilíbrio dinâmico existente internamente no organismo, responsável pela manutenção da vida. Entender como se processam os mecanismos que garantem esse equilíbrio ao organismo é o grande desafio da fisiologia. Mesmo quando em repouso, todos os sistemas orgânicos trabalham integradamente para a manutenção da homeostasia. Obviamente, os seres vivos uma vez no meio que os cerca, tomam-se sujeitos a todo tipo de influência que leva a perturbações desse equilíbrio interno. A compreensão de como o organismo reage integradamente a determinados estímulos do meio ambiente, vem se transformando em campos específicos de estudo dentro da fisiologia, dentre os quais poderíamos citar a fisiologia do exercício.

A fisiologia do exercício obedece os mesmos princípios básicos da fisiologia geral na condução de seus estudos, ou seja, preocupa-se com a função do organismo, porém na condição dinâmica de exercício.

A atividade física tem como peculiaridade causar modificações profundas no equilíbrio interno do organismo, levando-o a desenvolver mecanismos adaptativos tão variados quanto variadas possam ser as atividades agrupadas sob o título genérico de exercício físico. Essa marcante característica acaba por determinar uma aplicabilidade muito ampla do exercício, abrangendo desde atividades de lazer a programas específicos de treinamento que atendem a finalidades diversas como por

exemplo, prevenção e recuperação de distúrbios de saúde ou mesmo melhora da *performance* física em competições esportivas.

O ponto chave das modificações que ocorrem em resposta ao exercício parece decorrer do aumento da demanda energética dos músculos que estão realizando trabalho. A partir daí, todos os demais sistemas trabalham no sentido de adequar o metabolismo e o sistema de transporte às necessidades energéticas do músculo em atividade. Sistemas como o cardiovascular, respiratório e metabólico, integrados através de sistemas humorais e do sistema nervoso central, periférico e autonômico sofrem marcantes modificações. Variabilidades individuais somadas principalmente ao modo como o exercício é aplicado são determinantes críticos da maneira como o organismo responde a esse estímulo.

A grande popularidade do exercício na atualidade deve-se, pelo menos em parte, ao delineamento das modificações que imprime ao organismo quando aplicado de forma contínua ou regular, ou seja, sob forma de um programa de treinamento físico. Cada vez mais, são demonstrados os grandes benefícios de tais programas sobre a qualidade de vida do homem, no que se refere a manutenção da saúde ou mesmo recuperação de distúrbios. Por outro lado os contínuos avanços no campo da fisiologia do exercício têm levado à crescente otimização da *performance* atlética, tão desejada em competições esportivas.

A preocupação com um melhor estilo de vida, ou ainda, com a *performance* atlética, tem associado ao exercício físico alguns cuidados relacionados à nutrição, como por exemplo uso de suplementação vitamínica. Esse ponto porém, tem suscitado muita discussão no meio de pesquisa. Enquanto são claros os efeitos benéficos de programas de treinamento físico sobre o organismo como um todo, os resultados referentes à suplementação vitamínica têm sido no mínimo conflitantes.

A constatação da produção de radicais livres pelo organismo em situações de estresse (como pode ser interpretado o exercício), seus efeitos

deletérios e sua redução por determinadas substâncias (dentre elas algumas vitaminas), vem levantando novamente o interesse do meio científico sobre os efeitos da suplementação vitamínica no organismo, em situações específicas.

Classicamente, substratos energéticos como glicogênio hepático, glicogênio muscular e lactato sanguíneo cuja síntese e metabolismo costumam ser profundamente afetados pelo exercício, são utilizados como meio de identificar ou analisar as respostas do organismo à atividade física. Histamina, uma amina biogênica produzida, estocada e amplamente distribuída no organismo, também é uma substância, que embora pouco explorada em relação à atividade física, sofre modificações importantes em resposta não apenas ao estresse, mas também ao ácido ascórbico (vitamina C), tão utilizado sob forma de suplementação nos dias atuais.

Acreditamos portanto, que estudos envolvendo a suplementação vitamínica, em condições de repouso e após atividade física em indivíduos sedentários e submetidos a um processo de condicionamento físico, forneceriam dados de interesse para um maior entendimento a respeito da funcionalidade da suplementação vitamínica no *status* basal e dinâmico do organismo.

Faremos a seguir uma descrição um pouco mais detalhada sobre os efeitos do exercício físico no organismo, procurando caracterizar as variáveis bioquímicas como glicogênio hepático e muscular e lactato nesse contexto, bem como, sobre o ácido ascórbico e histamina.

1.1 EXERCÍCIO FÍSICO

BROOKS, FAHEY (1987) ao discorrerem sobre a complexidade do corpo humano em exercício, fazem uma analogia, muito interessante de seu funcionamento ao de uma máquina, como o automóvel. Assim como o automóvel

transforma uma forma de energia em outra na realização de trabalho, o corpo humano em exercício converte a energia química em mecânica, quando corre, nada ou salta. Muitos processos fisiológicos ocorrem simultaneamente nessa complexa máquina biológica em exercício, que tem sobre a máquina convencional algumas vantagens como a capacidade de adaptar-se ao estresse físico e ainda melhorar sua função. Enquanto as funções das máquinas são determinadas no momento de sua manufatura, as capacidades de *performance* do organismo alteram-se continuamente ao longo da vida.

Os sistemas orgânicos respondem e têm capacidade de adaptar-se aos estímulos externos, desde que apropriados. Quando aplicado frequentemente nos sistemas físicos, o “estresse adequado” leva a adaptações que resultam em aumento da capacidade funcional do organismo.

CANNON (1914) foi o primeiro a descrever a idéia de que o organismo reage a situações desfavoráveis em termos de atividades metabólicas altamente integradas. Essas reações, de acordo SELYE (1936), constituiriam a síndrome da adaptação geral (GAS) e seguiriam uma sequência estereotipada que designou como: alarme, defesa e exaustão.

A fase de alarme seria a resposta inicial ao estresse, envolvendo a mobilização de sistemas e processos no organismo, com o propósito de manter a homeostase naquele momento ou pouco depois. A etapa de defesa seria aquela onde o organismo melhora sua capacidade ou constrói reservas, sendo necessário para isso, a repetição do estímulo adequado. O último estágio - exaustão - ocorreria quando o estresse se tornasse insuportável e manifestar-se-iam no organismo sinais de comprometimento grave da homeostasia (BROOKS et al 1987).

As modificações que o exercício físico pode imprimir no organismo, ficam muito bem caracterizadas dentro dessas três fases. Quando o exercício é aplicado de maneira aguda, determina modificações no sistema orgânico

(reação de alarme) que vão modificando-se gradativamente; com a repetição do estímulo, os sistemas adaptam-se de forma que o mesmo agente causador de estresse seja cada vez menos ameaçador para sua homeostasia. Esse estágio, de defesa ou do desenvolvimento de resistência, representa o objetivo maior do condicionamento físico. Quando ocorre um supertreinamento ou aplicação de um estímulo inadequado manifestam-se os sinais de desequilíbrio através das injúrias (lesões articulares, ósseas, de tecidos mole, etc.) - é a fase de exaustão.

Considerando-se apenas as duas primeiras fases da GAS, temos, em relação ao exercício, dois universos diferentes em termos de modificações que ocorrem no organismo: as decorrentes do exercício agudo e aquelas decorrentes da aplicação do exercício sob forma de treinamento físico. Universos que apesar de distintos, correlacionam-se intimamente, pois podemos dizer que um é decorrente do outro, ou seja, para um organismo apresentar-se adaptado tem que ter passado pela fase de contato inicial com o exercício. A seguir procuraremos expor algumas das principais modificações que ocorrem em cada situação.

1.1.1 Adaptações fisiológicas ao exercício agudo

A capacidade de suprir energia para atividades que duram mais que 30 segundos depende do consumo e uso de oxigênio (O_2). A taxa de consumo para dado volume de oxigênio (VO_2) aumenta com a transição do repouso até cargas máximas de trabalho. A taxa máxima na qual o indivíduo pode consumir oxigênio (VO_{2max}) é uma determinante importante da capacidade de trabalho físico do indivíduo, sendo dependente da capacidade do sistema cardiovascular (BROOKS et al, 1987).

ROWELL (1974) e CLAUSEN (1977) observaram em indivíduos normalmente ativos (porém não submetidos a protocolos de treinamento físico) uma elevação do débito cardíaco em proporção linear com o aumento da captação de oxigênio. ÅSTRAND, CUDDY, SALTIN et al (1964) observaram uma tendência à diminuição do débito cardíaco à medida em que ia atingindo-se o VO_{2max} .

ÅSTRAND et al (1964), MARSHALL, SHEPHERD (1968), demonstraram que o volume sistólico sofre um aumento não maior que 10% desde o início do exercício até atingir-se a VO_{2max} . ROWELL (1987) aponta que a resposta da frequência cardíaca (FC) ao exercício é função, principalmente, da frequência cardíaca em repouso, e assim como o débito cardíaco, tem uma relação linearmente proporcional com a captação de O_2 . ESCOURROU, JOHNSON, ROWELL (1984), ROWELL (1984) observaram um aumento na concentração plasmática de norepinefrina, proporcional à elevação da FC.

O aumento observado por ROWELL (1974) e CLAUSEN (1977) na diferença artério-venosa de O_2 em indivíduos não atletas foi de $4.5 \text{ ml} \times 100 \text{ ml}^{-1}$ a valores de 15 a $16 \text{ ml} \times 100 \text{ ml}^{-1}$ em resposta ao exercício, representando um aumento de extração de aproximadamente 23% no repouso para 80 a 85% quando atingido o VO_{2max} .

A pressão arterial (PA) também tende a aumentar com o decorrer do exercício, como demonstrado por ÅSTRAND et al (1964) e ROWELL, BRENGUELMANN, BLACKMON et al (1968). Essa elevação na PA é interpretada por alguns como uma indicação de que existe um limite superior na capacidade de aumentar a condutância vascular.

ROWELL (1986) refere-se a redistribuição do débito cardíaco, através de vasoconstricções e vasodilatações regionais, como evento crítico para o fornecimento adequado de oxigênio ao músculo em trabalho. Dois sistemas são muito favorecidos durante a realização de exercício: o cardiovascular (na realidade

sua bomba propulsora, o coração, através da circulação coronária, cujo fluxo sanguíneo segue também uma relação direta com a VO_{2max} , e o grupo de músculos em atividade, onde tem sido classicamente demonstrado um grande aumento do fluxo sanguíneo (SALTIN, 1985). Órgãos esplâncnicos, músculos inativos, pele e tecidos conectivos têm sido referenciados, por muitos autores, como regiões que sofrem uma redução importante do fluxo sanguíneo em consequência de um aumento progressivo na atividade simpática vasomotora, que resulta em vasoconstrição nesses tecidos (KOTCHEN, HARTLEY, RICE et al, 1971, HANSEN, HESSE, CHRISTENSEN, 1978, ROWELL, 1986, BROOKS et al, 1987).

A modificação do fluxo sanguíneo que ocorre no músculo em exercício durante e logo após a realização de exercício tem sido extensivamente estudada. OWEN, EHRARDT, SCOTT et al (1975) citam duas hipóteses na tentativa de justificar essas alterações. Uma delas é a miogênica, que envolve a questão da pressão transmural intravascular, a segunda, hipótese metabólica, considera que a contração muscular levaria à depleção de oxigênio e ao acúmulo de metabólitos vasoativos que acabariam por determinar a vasodilatação. Nessa segunda hipótese, encaixa-se perfeitamente o papel da histamina, como substância vasodilatadora, participadora do processo da homeostase microcirculatória, defendida por alguns pesquisadores (SAMPAIO BARROS, 1993, AZEVEDO, 1994).

Para que todas essas alterações ocorram, existe uma grande interação dos sistemas humorais e nervosos central e periférico. De acordo com RASH, WILSON (1968), dentro do sistema endócrino, um dos órgãos mais estudados em relação aos efeitos do exercício físico, é o córtex adrenal. Na realidade, o eixo hipotálamo - hipófise - córtex adrenal, é classicamente estudado na análise dos efeitos do estresse sobre o organismo. A liberação do fator liberador de corticotrofina (CRF) ativa tanto o sistema nervoso autônomo simpático, quanto a

biossíntese e secreção de hormônio adrenocorticotrófico (ACTH). A ativação do sistema nervoso autônomo simpático leva a efeitos diretos sobre o sistema cardiovascular, além de estimular a síntese e liberação de catecolaminas. O ACTH age sobre o córtex adrenal estimulando a síntese e liberação de cortisol. As ações coordenadas do cortisol e das catecolaminas mobilizam substratos no sentido de manter o metabolismo. As modificações cardiovasculares e comportamentais estão integradas a essas adaptações que ocorrem em resposta à liberação do CRF (WEST, 1989).

1.1.1.1 Substratos Energéticos

Glicogênio muscular e hepático

Segundo AZEVEDO (1994) os trabalhos mais significativos sobre o metabolismo glicídico datam da década de sessenta, e foram os subsidiadores dos estudos sobre as demandas energéticas frente ao exercício. O papel crítico do glicogênio na produção de adenosina trifosfato (ATP) durante a contração muscular, colocou-o em papel de destaque no estudo dos substratos energéticos.

Das três principais fontes de energia (carboidratos, gorduras e proteínas), apenas os carboidratos podem ser catabolizados dentro da célula para proporcionar energia, sem o benefício do oxigênio. O açúcar mais simples, glicose, e sua forma de estoque, glicogênio, podem ser rapidamente quebrados para proporcionar energia no sistema glicolítico não-oxidativo da célula.

A síntese do glicogênio a partir da glicose (glicogenogênese) ou de outros substratos como lactato (gliconeogênese) e sua lise (glicogenólise) envolvem várias etapas e enzimas, sendo sujeitas a vários estímulos do organismo. Resultam em um processo bem mais complexo do que a simples formação de

glicogênio, quando há um excesso de fornecimento de glicose, ou sua quebra, em situações onde ocorre aumento de demanda energética.

RENNIE, WINDER, HOLLOSZY (1976) trabalhando com ratos em esteira, constataram ocorrer depleção parcial ou total do glicogênio muscular, quando os animais eram exercitados por períodos de tempo médio ou prolongado. HERMANSEN, HULTMAN, SALTIN (1967) observaram que as concentrações iniciais de glicogênio estão diretamente relacionadas à capacidade aeróbia do indivíduo. Foi sugerido que a depleção muito intensa do glicogênio, associada à hipoglicemia poderia levar à exaustão no decorrer da atividade física prolongada.

A depleção de glicogênio muscular pelo exercício parece sofrer influências tanto dos hormônios circulantes, quanto dos níveis séricos de substratos como glicose, lactato ou piruvato. Quanto mais elevados os teores circulantes dessas substratos, menor a glicogenólise (BAGBY, GREEN, KATSUTA et al, 1978, KUIPERS, COSTILL, PORTER, et al, 1986).

Na década de sessenta, pesquisadores escandinavos, publicaram os resultados de seus experimentos de "uma-perna", onde dois indivíduos pedalavam o mesmo cicloergômetro, cada um usando um dos pedais, realizando o exercício até a exaustão. Nos dias seguintes à realização do exercício, os indivíduos foram mantidos em repouso, e mantidos com dieta rica em carboidratos. Os autores observaram que na perna exercitada, havia ocorrido uma supercompensação de glicogênio que atingiu níveis em torno de 100% mais elevados que os valores basais, ao passo que na perna não exercitada praticamente não houve alteração dos seus níveis. Em outro estudo os pesquisadores procuraram alterar o conteúdo de glicogênio, através de dieta e exercício prévio. Dos resultados obtidos os autores sugeriram que: (i) o exercício prolongado de intensidade submáxima pode resultar em depleção de glicogênio do músculo ativo; (ii) o nível de glicogênio é pouco afetado no músculo inativo; (iii) em seguida de um exercício exaustivo e de uma

dieta rica em carboidratos o nível de glicogênio no músculo exercitado é restaurado a níveis mais elevados que antes do exercício; e (iv) o nível de glicogênio no músculo inativo é pouco afetado pelo exercício ou pela dieta (BERGSTROM, HULTMAN, (1966), BERGSTROM, HERMASSEN, HULTMAN (1967).

Partindo do princípio de que o exercício proporciona um forte estímulo para a re-síntese de glicogênio muscular no período pós-exercício, particularmente quando fornecido glicose, BONEN, HOMONKO (1994) procuraram investigar, no músculo esquelético de camundongos, a participação da gliconeogênese no processo de re-síntese. Estes autores concluíram que a gliconeogênese a partir do lactato ocorre predominantemente nas fibras musculares rápidas onde: (i) a redução apenas do glicogênio, proporciona um aumento negligenciável da gliconeogênese; (ii) os fatores metabólicos induzidos pelo exercício, regulam coordenadamente os processos estimuladores da gliconeogênese; e (iii) o aumento da concentração de glicogênio inibe os incrementos na gliconeogênese induzidos pelo exercício.

Os mecanismos que regulam a síntese e quebra do glicogênio não estão exatamente definidos. A proposição de GROSS, MAYER (1974) envolvendo o aumento do cálcio citosólico durante a contração muscular, que ativaria a fosforilase *b* e conseqüentemente a fosforilase *a*, enzima responsável pela fosforilação do glicogênio, tornou-se limitada após o trabalho de CONLEE, McLANE, RENNIE et al (1979). Mesmo com concentrações citoplasmáticas elevadas de cálcio, após estimulações elétricas no músculo isolado de rato, a fosforilase quinase tornou-se inativa em determinado instante, com conseqüente diminuição da glicogenólise. Para esses autores, a presença de metabólitos no músculo em contração levaria à inibição da glicogenólise.

HUTBER, BONEN (1989) trabalhando com ratos exercitados em esteira, com velocidades variadas de corrida, analisaram a incorporação de glicose

marcada ao glicogênio muscular de ratos. Sugeriram a partir de seus resultados que a glicogenólise e a glicogênese têm uma dinâmica mais complexa do que foi proposto originalmente, podendo ocorrer simultaneamente durante a atividade física e não apenas como proposto classicamente: glicogênese no repouso e glicogenólise durante o exercício.

De acordo com AZEVEDO (1994), o fígado é de importância primária para a manutenção da homeostase da glicose sangüínea. A reserva de glicogênio muscular e a reserva de glicogênio hepático são dinamicamente intercambiáveis. O músculo esquelético pode fornecer ao fígado o substrato (lactato) para a produção de glicose (através do ciclo de Cori), que se torna novamente disponível para ser captada pelo músculo em atividade.

Contudo, o conceito universalmente aceito sobre o metabolismo glicídico, onde a glicose pós prandial seria captada pelo fígado a partir da circulação porta e estocada como glicogênio hepático e então liberada de acordo com a necessidade para a circulação sistêmica, vem sofrendo uma considerável revisão. Trabalhos realizados com a análise do comportamento da glicose em situações de realimentação após jejum têm demonstrado que uma quantidade substancial de glicose tende a transpassar o fígado, circular até o músculo esquelético, ser convertida em compostos de 3 carbonos, quando então recircula ao fígado e é submetida à gliconeogênese (BROOKS, 1986).

A hipótese do “paradoxo da glicose” começou a surgir na década de oitenta com o trabalho de BOYD, ALBRIGHT, FOSTER et al (1981), onde foi demonstrado que ratos mantidos em jejum e posteriormente realimentados, apresentavam níveis séricos significativamente elevados de glicose e lactato, o que resultava em deposição significativa de glicogênio no fígado. Entretanto, quando os hepatócitos foram isolados e estudados *in vitro*, a glicose, mesmo em altas concentrações, não foi capaz de estimular a glicogenogênese. Por outro lado,

substratos como lactato, frutose e alanina resultaram em deposição significativa de glicogênio. Estes e outros resultados similares proporcionaram suporte para a hipótese de que a glicose é convertida em lactato, sendo este substrato o principal precursor do glicogênio hepático. A via direta [glicose portal \Rightarrow glicose-6-fosfato hepática \Rightarrow glicose-1-fosfato \Rightarrow uridinatrifosfato-glicose (UTP-G) \Rightarrow glicogênio], mostrou, por conseguinte, ser menos operativa que a via paradoxal [glicose \Rightarrow lactato periférico (muscular) \Rightarrow glicogênio hepático] na formação do glicogênio hepático (BROOKS, 1986).

Lactato sanguíneo

O conceito clássico de metabolismo do lactato durante o exercício sugere que um déficit na captação e oferta de oxigênio resulta na anaerobiose. A qual por sua vez estimula a glicogenólise e glicólise não oxidativa no músculo, com produção de ácido láctico (BROOKS, 1986).

O músculo esquelético perfazendo aproximadamente 70% do peso corpóreo, constitui a maior fonte não patogênica de ácido láctico, e provavelmente seu maior consumidor (em virtude de sua massa e circulação); podendo dizer-se que a dinâmica do lactato do organismo todo é, em última instância, regulada pelo músculo esquelético (ROTH, BROOKS, 1990a).

O lactato intramuscular e sua taxa de liberação aumentam durante os poucos minutos iniciais de exercício ou rápida estimulação elétrica do músculo esquelético (ROTH et al, 1990b). A transferência de substratos metabólicos do sangue para o espaço intracelular ou vice-versa, depende de duas barreiras arranjadas em série: a parede do capilar e o sarcolema. A parede capilar do tecido muscular tem sido vista como uma barreira de difusão passiva para pequenas moléculas hidrofílicas, com troca de moléculas, como o lactato, dependente do

produto entre a permeabilidade e a área de superfície de troca do leito capilar. Devido à resistência difusional, a parede capilar causa diferenças de concentração entre os espaços vascular e intersticial para todas as substâncias liberadas ou captadas pelo músculo. ROTH et al (1990a) utilizando a membrana plasmática (sarcolema) do músculo esquelético de rato como modelo, estudaram a cinética do transporte de lactato. De acordo com os resultados obtidos esses autores concluíram que há na membrana plasmática um carreador monocarboxílico específico, sensível tanto ao tamanho quanto à carga molecular, e que, existe no sarcolema um mecanismo de controle sensível para o fluxo bidirecional e uma grande capacidade para o transporte transmembrana, controlando uma transferência potencialmente rápida e volumosa de lactato e prótons no músculo esquelético.

No pH normal de repouso, a difusão passiva parece não ser o maior mecanismo pelo qual o lactato atravessa a membrana plasmática das células musculares esqueléticas. Com o declínio do pH entretanto, há provavelmente a contribuição do processo de difusão no aumento do fluxo de ácido láctico (MOON, BRILL, HOCHACHKA et al, 1987).

A dependência do processo de transporte do gradiente de pH prevaiente, ajudaria na redistribuição do lactato acumulado, de modo que aumentaria a taxa de efluxo de lactato e prótons das células ativas e sua captação pelas células inativas. A redução do pH sanguíneo por sua vez ajudaria na remoção do lactato do sangue para o fígado, rim, coração e músculo esquelético inativo. Esses processos ajudariam na regulação do pH intracelular e na economia de combustível do músculo (ROTH et al, 1990b).

1.1.2 Efeitos fisiológicos do treinamento físico

As relações existentes entre a forma de um órgão e sua função constituem as bases biológicas sobre as quais fundamentam-se os princípios do treinamento. A forma do órgão determina a função. Por outro lado, a função influencia a forma sob o ponto de vista formativo e modificador (ROUX, 1895).

Através de todos os efeitos que o treinamento tem sobre o organismo, este se adapta a situações que exigem maior rendimento. Eles garantem o equilíbrio entre a capacidade e a necessidade de rendimento até os limites da potencialidade biológica determinada por fatores genéticos e exógenos. Um dos princípios que possibilitam o aumento do rendimento através do treinamento é a “economia de funções”. Através desse processo, o organismo aumenta suas reservas energéticas e gerais e conseqüentemente a capacidade de rendimento (MELLEROWICZ, MELLER, 1979).

O treinamento físico pressupõe expor o organismo a uma carga de treinamento ou *work stress*, de intensidade, duração e freqüência suficientes para produzir um efeito mensurável, isto é, uma melhora das funções para a qual se está treinando. Com a finalidade de obter-se tal efeito de treinamento é necessário expor o organismo a uma sobrecarga, que é um fator de estresse adequado, maior do que o encontrado no dia-a-dia (ÅSTRAND, RODAHL, 1986). Os efeitos do treinamento dependerão, em última análise, da qualidade do treinamento e da variabilidade individual nas respostas aos estímulos.

É aceito atualmente que o treinamento físico produz adaptações que resultam na melhora da *performance* do organismo e melhora da qualidade de vida na doença. OLTMAN, PARKER, ADAMS et al (1992) estudando a reatividade vasomotora de artérias coronárias porcinas, observou que o treinamento físico prolongado alterava a sensibilidade coronária a vários agentes vasoativos.

BOWLES, FARRAR, STARNES (1992) observaram que, em ratos, o treinamento físico proporcionou melhor recuperação contrátil miocárdica após isquemia e reperfusão, resultando em melhora da função hemodinâmica, aumento da reperfusão coronária e aumento do conteúdo de fosfato de alta energia após a reperfusão. Em seqüência a esse estudo, BOWLES, STARNES (1994) analisaram, nesta mesma espécie animal, as respostas metabólicas e o comportamento do cálcio nas mesmas condições do estudo anterior. Embora não tenham encontrado diferenças significativas no *status* bioenergético anteriormente ou após a isquemia, os níveis de creatina fosfato e ATP foram significativamente mais elevados nos corações dos animais treinados, além de ter havido uma captação significativamente menor de cálcio durante a fase de reperfusão, nos ratos treinados. Os autores reforçaram, portanto, a idéia de que o treinamento físico promove uma maior tolerância ao dano decorrente da isquemia-reperfusão, e que pode contribuir para a otimização da recuperação funcional pós-isquêmica.

Grandes modificações são processadas no sistema cardiovascular quando o organismo é submetido a um protocolo de treinamento físico. De acordo com ROWELL (1986), os ajustes que ocorrem no sistema cardiovascular são função da idade, nível inicial de VO_{2max} , e da massa de músculo que é condicionada. O exercício aeróbico é o que resulta nas maiores mudanças na função cardiovascular (BROOKS et al, 1987).

É observado nos indivíduos treinados uma melhora no consumo de oxigênio; redução da freqüência cardíaca, em repouso e em resposta a um dado nível submáximo de exercício (tem sido demonstrado que o treinamento tem pequeno ou nenhum efeito sobre a freqüência cardíaca máxima); aumento do volume sistólico, no repouso e durante exercícios máximo e submáximo; discreto aumento na diferença artério-venosa de oxigênio; aumento da capilarização ao redor

das fibras musculares; tendência a redução da pressão arterial sistólica, média e diastólica em repouso e em resposta a exercício submáximo (BROOKS et, 1987).

1.1.2.1 Substratos energéticos

Glicogênio muscular e hepático

Uma adaptação bem estabelecida, na literatura, ao treinamento físico prolongado é a elevação da quantidade de glicogênio muscular armazenada (GOLLNICK, ARMSTRONG, SAUBERT et al, 1973), além da redução de sua utilização durante a realização do exercício (WINDER, DUAN, 1992, DUAN, WINDER, 1994).

GOLLNICK et al (1973) observaram que o treinamento aumenta a capacidade do músculo de utilizar o glicogênio nos processos oxidativos em decorrência de adaptações celulares relacionadas ao aumento do número e tamanho das mitocôndrias e aumento das fibras musculares. Tem sido demonstrado que as enzimas envolvidas no controle da glicólise, no ciclo de Krebs e no sistema de transporte de elétrons encontram-se aumentadas com o treinamento físico, colaborando para maior eficiência do metabolismo glicolítico. (BARNARD, EDGERTON, PETER, 1970, BALDWIN, WINDER, TERJUNG et al, 1972, KARLSSON, NORDESJO, JORFELDT et al, 1972,).

Por outro lado, o treinamento parece produzir um aumento da atividade da enzima glicogênio sintetase, o que levaria ao aumento nos níveis basais do glicogênio muscular (TAYLOR, THAYER, RAO, 1972).

DUAN et al, 1994 observaram uma redução dos níveis de frutose 2,6-difosfato (F-2, 6-P₂) e glicose 1,6-difosfato (G-1, 6P₂), compostos que têm sido demonstrados estar elevados no músculo menos ativo de ratos não treinados, durante exercícios de moderada intensidade no estado de jejum. Nos animais não treinados

sua elevação tem sido relacionada a estimulação da glicólise e produção de lactato como substrato gliconeogênico durante o exercício de longa duração ou quando há uma maior dependência da gliconeogênese hepática para produção de glicose. Os autores sugeriram que a redução dessas enzimas pode ser, pelo menos em parte, responsável pela redução do lactato sanguíneo que ocorre em consequência ao treinamento físico.

GOBATO (1993), AZEVEDO (1994), em experimentos com ratos submetidos a treinamento físico através do exercício dinâmico de natação, observaram maiores níveis de glicogênio hepático basal nos animais treinados em comparação aos sedentários. AZEVEDO (1994) reportou também menor catabolismo desse substrato em resposta ao exercício, nos animais treinados.

Lactato sanguíneo

Habitualmente espera-se com a instituição de um protocolo de treinamento físico, que ocorra diminuição dos níveis sanguíneos de lactato em resposta ao exercício agudo de intensidade submáxima para uma mesma taxa absoluta de trabalho (FAVIER, CONSTABLE, CHEN et al, 1986, MAASSEN, BUSSE, 1989, FOX, BOWERS, FOSS, 1991, COGGAN, SPINA, KOHRT et al, 1993).

DUAN et al (1994), analisando os níveis diminuídos de lactato em ratos treinados e submetidos ao exercício agudo, acreditam que sua diminuição deva-se, pelo menos em parte, à diminuição dos níveis das enzimas F-2,6-P₂ e G-1,6-P₂, nos músculos esqueléticos, em resposta ao treinamento, além do aumento quantitativo e funcional das mitocôndrias, com conseqüentes mudanças dos moduladores glicogenolíticos/glicolíticos. Como também são observados níveis diminuídos de epinefrina, após o treinamento, estes autores propuseram que a

diminuição dos níveis de lactato possa também estar atrelada a menor taxa de glicogenólise nos músculos menos ativos, onde é controlada pela epinefrina.

Todavia, têm sido encontrados, recentemente, por alguns pesquisadores em estudos tanto em humanos como em animais de laboratório, níveis consideravelmente elevados de lactato nos indivíduos treinados submetidos a uma sessão de exercício agudo. Foi proposto que esse aumento na concentração de lactato sanguíneo seria decorrente de um maior efluxo desse substrato no sentido músculo → espaço intravascular (OYONO-ENGUELLE, MARBACH, HEITZ et al, 1990, GOBATTO, 1993).

ROTH (1991), PILEGAARD, CARSTEN, WIBRAND (1993) sugeriram que o treinamento físico pode aumentar a atividade do carreador de lactato, ou ainda, induzir à síntese de mais proteínas carreadoras, o que por sua vez, poderia estar levando ao aumento do lactato sanguíneo em indivíduos treinados exercitados agudamente.

Em síntese, o metabolismo energético no exercício físico pode ser considerado como um megaprocesso, extremamente complexo. A evolução da pesquisa nessa área tem revelado que os eventos que levam, em última análise, à produção de energia, são intimamente correlacionados, sujeitos a praticamente todo tipo de influência externa e conseqüentemente interna, cuja perfeita compreensão permanece ainda um desafio aos pesquisadores da área.

1.2 ÁCIDO ASCÓRBICO

A descoberta do ácido ascórbico (AA) relaciona-se intimamente com a evolução do conhecimento sobre um distúrbio patológico denominado escorbuto, cuja manifestação caracteriza-se no homem, por sintomas como lassidão,

fraqueza, irritabilidade, perda de peso, mialgias e artralgias, além de sinais como hemorragias múltiplas, dificuldade de cicatrização, entre outros (BERKOW, FLETCHER, 1987). O escorbuto, reconhecido na atualidade como uma decorrência da deficiência de vitamina C no organismo, vitimou muitas pessoas no Egito, Grécia e Roma (HORNIG, MOSER, GLATTHAAR, 1988).

Antigamente, durante as longas viagens marítimas e guerras, a alimentação disponível aos tripulantes ou aos soldados era muito pobre em vitamina C, sendo relatados entre os anos de 1556 e 1857, 114 epidemias de escorbuto em muitos países, a maioria ocorrendo durante o inverno e a primavera, quando frutas e vegetais frescos eram escassos (HORNIG et al, 1988).

A descoberta do elemento, cuja deficiência na dieta levava ao escorbuto ocorreu, porém, somente em 1907, quando HOLST, FROLICH, observaram que a cobala era tão susceptível a essa patologia quanto o homem. A observação de que a reproduzibilidade experimental do distúrbio era viável, levou ao desenvolvimento de um ensaio para determinação biológica da potência antiescorbútica dos alimentos.

Ainda no início do século, foi extraída uma substância do limão, e proposto que a atividade anti-escorbútica deveria estar relacionada com a capacidade de redução do fenolindofenol (ZILVA, 1921). Em 1928, foi isolada a partir de glândulas adrenais e laranjas, uma substância redutora chamada de "ácido hexurônico", que posteriormente foi demonstrada como sendo idêntica ao ascorbato (SVIRBELY, SZENT-GYORGYI, 1932, KING, WAUGH, 1932). Em 1933 foi determinada a estrutura da vitamina C (HAWORTH, HIRST, 1933) e realizada a primeira síntese orgânica que, sessenta anos depois, continua a ser a base para a produção industrial em larga escala dessa vitamina (REICHSTEIN, GRUSSNER, OPPENHAUER 1933).

A vitamina C é um cristal sólido, inodoro, de sabor ácido. Sua fórmula empírica é $C_6H_8O_6$ e tem peso molecular de 176 (BURTON, 1976). Pode ocorrer no organismo como ácido ascórbico e na forma oxidada (ácido deidroascórbico) (CORNATZER, 1989). Os produtos de degradação do ascorbato são, além do ácido deidroascórbico (ascorbona), ácido 2,3-diceto-Lgulônico, ácido oxálico, e ácido L-treônico; destes apenas a ascorbona e obviamente o ascorbato possuem atividade antiescorbútica (BURTON, 1976).

A maioria das espécies animais é capaz de sintetizar o AA a partir da D-glicose ou D-galactose. Entretanto, o homem, outros primatas e cobaias não têm capacidade de sintetizá-lo, porque carecem do sistema enzimático que converte o ácido L-gulonolactônico em AA (HARPER, 1968).

De acordo com CHATERJEE (1975), a ausência da enzima terminal L-gulonolactona oxidase nessas espécies poderia ser atribuída a uma perda ou do gene ou da capacidade do gene responsável por sua síntese, constituindo um exemplo de perda evolucionária de função, uma vez que essa capacidade biossintética foi perdida na grande maioria das espécies animais mais evoluídas.

Frente a essas constatações, dois pontos importantes devem ser salientados: (i) o ascorbato continuou sendo importante para a homeostase do organismo do homem, dos primatas e cobaias a despeito de sua incapacidade para síntese dessa vitamina, cuja fonte passou a ser proveniente da dieta para essas espécies; e (ii) a cobaia, desde os estudos feitos por HOLST et al (1907), tornou-se a espécie animal mais utilizada para os estudos referentes ao AA, tanto pelas vantagens do uso do animal experimental que pode ser considerado como um sistema simulador do sistema humano, mas, e principalmente, pela similaridade ao homem no que se refere à deficiência enzimática que a impede de sintetizar essa vitamina, o que permite que as deduções auferidas sejam aplicáveis ao homem por comparação ou extrapolação (LANE-PETER, 1963).

O processo de absorção do AA no intestino, em cobaias e no homem, é feito por mecanismo de transporte ativo (requerendo portanto energia), mediado por carreador e sódio-dependente; ao passo que no rato e nas demais espécies não susceptíveis ao escorbuto, a absorção é feita por mecanismo de difusão (HORNIG et al, 1988). Como o transporte ativo é um processo saturável, parece haver, nas cobaias e no homem, uma capacidade de absorção relativa dessa vitamina. ROSE, NAHRWOLD (1978), KARASOV, DARKEN, BOTTUM (1991) demonstraram que, em cobaias, o mecanismo transportador de AA, assim como a maioria dos transportadores de nutrientes, é regulado pelos níveis dietéticos de seus substratos, sendo observado por esses pesquisadores que a captação de ascorbato no íleo sofre um processo reversível de *downregulation* na condição de hipervitaminose. O inverso, por outro lado, não foi observado; ou seja, o déficit vitamínico não resultou na *upregulation* de sua absorção, o que foi considerado como esperado, uma vez que a eficiência de extração já é praticamente completa na condição de normovitaminose. Considerando-se que no trabalho de ROSE et al (1978) o AA foi administrado por via intramuscular, é possível que a regulação de sua captação a nível intestinal se faça em resposta aos níveis séricos dessa substância.

A distribuição tissular de AA em cobaias é muito semelhante àquela observada em humanos, com maiores concentrações na hipófise e glândula adrenal, seguidas de teores também elevados no fígado, baço e cérebro, enquanto que os menores níveis podem ser observados no coração e músculo esquelético (HORNIG, 1975). Os níveis tissulares dessa substância podem ser afetados por diversas condições como por exemplo, em resposta à administração oral de vitamina C, tendo sido observado por KEITH, PELLETIER (1974), em cobaias, um rápido aumento, dose-dependente, nos níveis tissulares de ascorbato em resposta à administração oral dessa vitamina. A idade parece determinar diferenças na

concentração de AA nas glândulas adrenais e no fígado, havendo uma tendência à diminuição nas cobaias mais velhas. O sexo, ao contrário, parece não influenciar nos teores de ascorbato tissular (HUGHES, JONES, 1971). É classicamente demonstrado que algumas situações como estresse e condições como tabagismo levam à depleção dos níveis tissulares e séricos de ácido ascórbico (SAYERS, SAYERS, 1949, HUGHES, JONES, NICHOLAS, 1970, HUGHES, JONES, WILLIAMS et al, 1971).

O ascorbato é uma substância redutora. Oxida-se facilmente em ácido deidroascórbico, liberando dois átomos de hidrogênio, admitindo-se pois, que funcione como um transportador de íons hidrogênio (HARRIS, 1956). KING já em 1953 sugeria sua provável participação no controle de muitas reações no organismo, existindo na atualidade muitas implicações funcionais dessa substância no organismo, embora seu papel ainda não esteja suficientemente esclarecido. Este fato levou HORNIG et al (1988) a afirmarem que o único papel que o AA tem categoricamente estabelecido é sua função na prevenção e tratamento do escorbuto.

A maioria das funções fisiológicas ou bioquímicas do AA foi estabelecida a partir de observações dos quadros decorrentes de sua deficiência no organismo, tendo como modelo experimental as cobaias. Muito comentado é o papel do AA na síntese de colágeno. Tem sido demonstrado que a deficiência de vitamina C leva a uma redução da estabilidade do tecido conectivo e conseqüente prejuízo do processo de cicatrização.

A deficiência de AA em cobaias parece levar a uma redução significativa da carnitina (elemento essencial para carrear ácidos graxos de cadeia longa para a mitocôndria, para β - oxidação, proporcionando energia para as células) tanto no miocárdio como no músculo esquelético.

Experimentos com cobaias deficientes em AA sugerem que a síntese de aminas biogênicas é dependente do *status* de ascorbato.

A deficiência de vitamina C em cobaias reduz em 46% a atividade da enzima hepática que catalisa a conversão do colesterol em ácido biliar, levando ao acúmulo de colesterol nos tecidos e plasma.

O ascorbato parece ser um poderoso promotor da absorção de ferro não-heme a partir da dieta, e atuar também reduzindo o ferro férrico no estômago, além de formar complexos com os íons ferro que permanecem no duodeno em pH alcalino. O efeito do AA é dose-dependente e pode aumentar em muitas vezes a absorção do ferro (HORNIG et al, 1988).

Existem evidências da participação do ascorbato também na síntese de esteróides, no metabolismo de drogas, na degradação da tirosina, além da consideração atual de ser o AA um importante componente nos sistemas *scavengers* de radicais livres (TROUT, 1991).

BERGSTEN, MOURA, ATWATER et al (1993) partindo da constatação de que o ácido ascórbico existe normalmente nas células beta pancreáticas, em concentrações milimolares, analisaram o efeito do ascorbato extracelular sobre estas células. Foi observado que ele inibe transitoriamente a despolarização da célula beta, sendo sugerido por esses autores que a vitamina C pode, portanto, modular a habilidade da glicose em estimular a secreção de insulina nessas células (*glucose sensing*).

Enfim, o conhecimento expandido, na atualidade, acerca da vitamina C, que em muito se correlaciona com os desequilíbrios decorrentes de sua deficiência no organismo, bem como um provável efeito benéfico, ainda a ser categoricamente confirmado, na prevenção de alguns distúrbios como coronariopatias (envolvendo os fatores de risco para seu desenvolvimento) (TROUT, 1991) e na redução dos radicais livres vêm constituindo elementos subsidiadores da indicação da suplementação vitamínica que vem sendo recomendada e utilizada por

muitos indivíduos da sociedade: leigos, profissionais de saúde, atletas, etc, com as mais diversas finalidades.

Porém, são muitos os pesquisadores que afirmam que as bases para essa suplementação vitamínica ainda são empíricas, face à limitação dos conhecimentos vigentes sobre os efeitos da vitamina C, administrada em doses suplementares, sendo que os benefícios claramente comprovados dessa substância foram constatados nos casos em que havia um déficit nutricional dessa vitamina.

O uso de suplementação vitamínica com finalidade de melhora da performance atlética, por sua vez, constitui um dos campos onde há maior controvérsia.

Os estudos envolvendo o AA na atividade física são relativamente antigos, existindo relatos de melhora da *performance* física em atletas desde os trabalhos desenvolvidos por RUGG GUNN (1938), GIROUD, RATSIMAMANGA (1939), SOBECKI (1939) e BRUNNER (1941); todos eles relatando um efeito benéfico de grandes doses da vitamina C no exercício muscular.

De acordo com BOURNE (1968), os russos, por volta da década de sessenta, formaram um dos principais grupos que advogavam o uso da suplementação vitamínica nos esportes, baseados no pressuposto de que a atividade física intensa, aumentaria os requerimentos vitamínicos diários, e nos resultados obtidos a partir de estudos realizados com animais de laboratório e humanos, que indicavam haver uma melhor *performance* física por períodos de tempo mais prolongados.

Em 1966, Van HUSS estimulado pelos trabalhos russos desenvolveu um protocolo de suplementação de vitamina C, junto a atletas universitários, tendo obtido como resultado diminuição dos níveis de lactato após o exercício físico, dados que foram de encontro aos obtidos previamente por GIROUD et al (1939).

HOWALD, SEGESSER, KORNER (1965) observaram redução da frequência cardíaca e menores concentrações séricas de glicose, nos indivíduos treinados que receberam doses diárias de um grama de vitamina C ao longo de duas semanas.

Entretanto, muitos pesquisadores não conseguiram observar modificações significativas, quer a nível de *performance* física, ou no comportamento de variáveis bioquímicas em resposta a doses suplementares de ascorbato (GEY, COOPER, BOTTENBERG, 1970, KEREN, EPSTEIN, 1980, KEITH, DRISKELL, 1982).

HULTMAN, THOMSON, HARRIS (1988) chamam atenção para o *design* dos protocolos, que podem não ter seguido necessariamente a mesma rigidez, além da questão do uso de diferentes doses da vitamina e da não determinação do *status* basal individual de vitamina C, antes de ser iniciada a suplementação. Todos esses fatores podem ter interferido nos diferentes resultados obtidos.

Parece claro que o AA tem um papel importante na homeostasia do organismo. Sua deficiência pode resultar em injúrias severas. Entretanto, os efeitos resultantes da administração complementar dessa substância sobre o organismo como um todo, tanto em termos puramente fisiológicos, como na esfera da patologia permanecem ainda um problema a ser elucidado.

1.3 HISTAMINA

"Histamine, justly named the tissue amine, crosses all the frontiers: between physiology, pharmacology, biochemistry and pathology, between the central nervous system and the periphery, and between different tissues and organs"

Str William Paton¹

1.3.1 Pequeno Histórico

A histamina (HA) foi **sintetizada** como curiosidade química por WINDAUS, VOGT (1907), antes mesmo do reconhecimento do seu significado biológico, feito por BARGER, DALE (1910) e KUTSCHER (1910), que identificaram-na como estimulante uterino em extratos de *ergot* (esporão de centeio).

Ainda no início do século, a HA foi submetida a intenso estudo farmacológico por DALE, LAIDLAW (1910, 1911), sendo dessa época as primeiras descrições de algumas de suas potentes ações biológicas - muito antes de serem constatadas sua ocorrência no organismo e liberação em determinadas situações.

Quase vinte anos depois, DALE et al (1929) **isolaram** a HA a partir de amostras frescas de fígado e pulmão em quantidades farmacologicamente ativas.

Em 1927, LEWIS demonstrou sua **liberação** a partir da pele em resposta à injúria localizada ou reações anafiláticas. Provavelmente iniciava-se aqui,

¹ PATON, W. Foreword. In: GANELLIN, C.R., PARSONS, M.E. *Pharmacology*..., 1982.

a correlação entre histamina e fenômenos patológicos, tão explorada ao longo desse século.

Em 1947 ROCHA e SILVA, SCROGGIE, FIDDLAR constataram que a heparina era liberada simultaneamente à liberação de HA, a partir do fígado de cães, durante o choque induzido por peptonas. Esse resultado proporcionou o primeiro indício para a identificação do local de estoque da HA, uma vez que o fígado de cão é rico em mastócitos e a heparina é estocada em grânulos secretórios nessas células. Os trabalhos desenvolvidos a partir de então, por McINTOSH, PATON (1949) e RILEY, WEST (1966) deixaram poucas dúvidas quanto a serem os mastócitos uma das principais fontes de HA.

Os avanços na investigação acerca da HA continuaram e foram possíveis graças ao desenvolvimento de novas técnicas de pesquisa. Segundo GANELLIN, PARSONS (1982) merecem destaque três estágios na evolução dos instrumentos disponíveis para o estudo dessa amina: (i) introdução dos anti-histamínicos na década de 40, que levaram ao conceito farmacológico de receptores para HA e possibilitaram a identificação de muitas de suas ações biológicas específicas; (ii) na década de 60, o desenvolvimento de técnicas bioquímicas que possibilitaram o estudo do catabolismo e *turnover* da HA, estabelecendo-lhe um provável papel metabólico; e, (iii) descobrimento, nos anos 70, de agonistas seletivos, sugerindo a existência de um segundo subtipo de receptor histaminérgico.

Foi a partir da década de 70, que, segundo GANELLIN et al (1982) passou a haver um crescimento quase que explosivo das pesquisas envolvendo a HA. Nas últimas décadas, à luz do desenvolvimento da ciência, outras técnicas, mais refinadas, foram desenvolvidas como *binding*, que associado a estudo funcionais, permite um mapeamento funcional dos receptores histaminérgicos (BENNARDINI, AMERINI, FRANCONO, et al, 1984). Todavia, existem ainda

muitas controvérsias acerca do papel fisiológico e mesmo fisiopatológico desta substância.

1.3.2 Classificação, origem, liberação e receptores

A histamina faz parte de um grupo de substâncias classificadas como **autacóides** (do grego *autos*: próprio, e *akos*: agente medicinal ou remédio) - substâncias com intensa atividade farmacológica, presentes normalmente no organismo ou nele formadas e que não poderiam ser classificadas junto a outros membros de grupos mais amplos como hormônios (DOUGLAS, 1980).

Também conhecida como 2-(4-imidazolil)etilamina, é uma molécula composta por uma porção imidazole e um grupo amino através de dois grupos metileno.

O aminoácido histidina é o precursor da histamina tecidual. Sob ação da histidina descarboxilase, uma enzima com alta afinidade pela histidina, este aminoácido perde um grupo carboxila, dando origem à HA (KAHLSON, ROSENFREN, 1968, GREEN, PRELL, KHANDEWAL, 1987).

A principal rota de degradação da HA foi estabelecida na década de 50 por Schayer. As enzimas capazes de inativar a histamina são amplamente distribuídas nos mamíferos. Os principais meios de catabolismo são a deaminação oxidativa (por ação da histaminase ou diamino-oxidase) dando origem ao ácido acético imidazole; e a metilação (através da histamina metil-transferase), formando a n-metil-histamina que sob ação da MAO (monoamino-oxidase) origina o ácido acético n-metilimidazole (KAHLSON et al, 1965, BEAVEN, 1982, GREEN et al, 1987).

A HA é amplamente distribuída nos mamíferos. A maior parte dessa amina, nos tecidos parece ser estocada em grânulos secretórios de mastócitos. Já foram identificadas porém, outras fontes adicionais, como basófilos, (GRAHAM, LOWRY, WHEELWRIGHT et al, 1955), plaquetas (em algumas espécies) (GOTH, 1978, ALMEIDA, FLYE, DEVERAUX, 1980), células tipo enterocromafins do estômago de ratos (HAKANSON, LARRSON, SUNDLER, 1974, SOLL, LEWIN, BEAVEN, 1981) e neurônios do mesencéfalo (HAKANSON et al, 1974, SOLL et al, 1981). Mecanismos imunológicos e não-imunológicos parecem ativar a liberação de HA a partir dos mastócitos e basófilos.

É possível que algumas situações ou substâncias possam estimular tanto a síntese/liberação quanto a degradação de HA. Alguns autores observaram, por exemplo, um aumento da liberação de HA em situações onde havia produção de radicais livres (MASINI, GIANELLA, BIANCHI, 1987, MANAIONI, MASINI, 1988, WERNS, LUCCHESI, 1989, MASINI, BIANCHI, GAMBASSI et al, 1990). Um menor aumento da liberação histamínica foi observado quando adotados meios para diminuição da produção desses radicais (MASINI, GAMBASSI, GIANELLA et al, 1989). Situações como estresse parecem estimular também a atividade enzimática da histidina descarboxilase. (SCHAYER, GANLEY, 1959). Também foi sugerido que a agregação plaquetária poderia estimular a produção de HA e vice-versa (MANNAIONI, PALMERANI, PISTELLI et al, 1990).

De outro lado, SUBRAMANIAN, NANDI, MAJUMDER et al (1973) propuseram ao ácido ascórbico um papel de "detoxificador" da HA, cuja porção imidazole se romperia sob ação do produto da oxidação do ascorbato. Estes autores propuseram que em determinado sistema onde houvesse indução de formação de HI, haveria também um aumento da síntese de ácido ascórbico, que minimizaria os efeitos indesejáveis da produção em excesso dessa amina, em determinadas situações.

CHATERJEE (1975) sugere a existência de uma coincidência entre a transição dos sítios biossintéticos de ascorbato (a capacidade biossintética teria iniciado no rim dos anfíbios, permanecido no rim dos répteis, transferida para o fígado dos mamíferos, e finalmente desaparecido em cobaias, mamíferos, voadores primatas e no homem) a uma evolução da ação da HA nos mamíferos. Essa amina biogênica praticamente não induz respostas no sistema cardiovascular de anfíbios e répteis, ao contrário dos mamíferos, cujo sistema circulatório sofre modificações intensas em resposta à HA, a qual nessa espécie é facilmente liberada em situações de estresse.

Os efeitos da HA são mediados por diferentes receptores, sendo já identificados três subtipos: H_1 (ASH, SHILD, 1966), H_2 (BLACK, DUNCAN, DURANT et al, 1972) e H_3 (ARRANG, GARBAG, SCHWARTZ, 1983). Os mecanismos de transdução, parecem diferir em cada caso. Os receptores H_1 são acoplados à quebra de fosfoinosítídeo e mobilização de cálcio, enquanto que os receptores H_2 estão ligados à adenilciclase. O mecanismo envolvido no acoplamento estímulo-resposta após a ativação dos receptores H_3 ainda não está definido. As respostas mediadas através dos receptores H_1 são antagonizadas por anti-histamínicos clássicos como mepiramine e clorfeniramine. Os receptores H_2 são antagonizados por outra classe de bloqueadores representados por cimetidina e ranitidina; os receptores H_3 por tioperamine (PEARCE, 1987).

As ações biológicas da HA dependerão portanto do local e da quantidade de liberação deste autacóide e do(s) subtipo(s) de receptores presente(s) em determinado tecido, podendo ser observadas desde reações sistêmicas (como ocorre nas reações anafiláticas) a efeitos localizados no sistema cardiovascular, musculatura lisa, secreção gástrica, sistema nervoso central, sistema imunológico ou em processos específicos como proliferação celular e no câncer (KAHLSON et al, 1968, PEARCE, 1991).

1.3.3 Efeitos sobre o sistema cardiovascular

O conteúdo de HI cardíaca varia nas diferentes espécies de mamíferos, e também de acordo com a metodologia utilizada para sua determinação. Um exemplo da variabilidade entre as espécies é demonstrado na **Tab.1.1**

Tab.1.1 Conteúdo de histamina cardíaca em diferentes espécies de mamíferos

ESPÉCIE	CONTEÚDO*
camundongo	0.29 - 0.53
rato	1.51 - 3.37
coelho	0.50 - 1.20
cobaia	4.30 - 6.70
cão	4.58
macaco	1.00
homem	1.60

(*) valores médios, expressos em $\mu\text{g/g}$ tecido. Baseada nos dados de WOLFF et al²

Os camundongos parecem ter o menor conteúdo de HA cardíaca, ao passo que as cobaias possuem quantidades consideráveis dessa amina. É interessante notar que seu padrão de distribuição no tecido cardíaco é praticamente o mesmo em diferentes espécies, ou seja, maior concentração no átrio direito, com quantidades menores presentes no átrio esquerdo, ventrículo direito e ventrículo esquerdo, em ordem decrescente. Embora essa distribuição assemelhe-se a dos mastócitos, há evidências de que existam, no tecido cardíaco assim como em outros tecidos, outras fontes de HA além da mastocitária (WOLFF, LEVI, 1986).

A HA causa uma ampla variedade de respostas em praticamente todo o sistema cardiovascular, algumas das quais, segundo LEVI. OWEN,

² WOLFF, A.A., LEVI, R. *Circ. Res.* 1986, p.6

TRZECIAKOWSKI, (1982), de importância crítica para o desenvolvimento histórico do conceito de receptores histamínicos e identificação de seus antagonistas. No ano de 1948, quando Ahlquist definia a existência de dois adrenoceptores: alfa e beta, FOLKOW, HAEGGER, KAHLSON encontravam os primeiros indícios da existência de um segundo subtipo de receptor histaminérgico, que só foi identificado realmente 20 anos mais tarde por BLACK e colaboradores (1972).

Os muitos efeitos elicitados pela HA sobre o sistema cardiovascular através da ativação de seus receptores específicos, assim como sua concentração tecidual, variam de acordo com a espécie estudada, fato já reconhecido por Dale et al (1910, 1911, 1919) em seus primeiros experimentos com HA (LEVI et al, 1982). Nessa breve revisão daremos enfoque às ações da HI sobre o sistema cardiovascular de cobaias, espécie animal utilizada em nosso estudo.

As cobaias, segundo LEVI et al (1982) têm grande popularidade também nos estudos relacionados à HA devido a sua grande sensibilidade a anafilaxia, além de ter uma semelhança muito grande aos primatas e humanos nas respostas a essa amina.

Efeitos sobre a contratilidade, geração e condução do estímulo elétrico no miocárdio

A HA parece exercer efeitos bifásicos (positivo e negativo) na contratilidade cardíaca, mediado por diferentes receptores (LEVI et al, 1982). O efeito inotrópico positivo pode ser observado em corações isolados de cobaias, na mesma dose em que é elicitada uma elevação da frequência sinusal, um efeito independente do sistema nervoso autônomo (MANNAIONI, 1960, TRENDELEMBURG, 1960, LEVI, GERSHON, 1970). O efeito cronotrópico positivo seria mediado por receptores H_2 e o negativo por receptores H_1 (ZAVECZ, LEVI, 1978).

De acordo com LEVI et al (1982) parece razoável aceitar-se que o cálcio esteja envolvido no mecanismo pelo qual a HA exerce efeitos inotrópicos positivos, acreditando ainda, estes autores, ser possível que a mudança de fluxo iônico de cálcio resulte de uma ação da HA diretamente sobre os canais de cálcio, ou seja consequente à elevação dos níveis de AMP_c , induzida pela HA.

A HA produz um efeito cronotrópico positivo em corações isolados de cobaias, que não é antagonizado pelos anti-histamínicos clássicos, o que levou alguns pesquisadores a pensar durante algum tempo que a ação cardioestimulatória da HA, em cobaias, fosse devida à liberação de catecolaminas (Von EULER, 1966) - idéia refutada após os trabalhos desenvolvidos por MANNAIONI (1960), TRENDELEMBURG (1960), LEVI et al, (1970) demonstrando que os efeitos histamínicos sobre o cronotropismo permaneciam, mesmo com destruição dos terminais adrenérgicos e bloqueio dos receptores beta-adrenérgicos.

Posteriormente, os trabalhos desenvolvidos por BLACK et al, 1972, MORONI, LEDDA, FANTOZZI, 1974, LEVI, CAPURRO, LEE, 1975, PARSONS, OWEN, GANELLIN et al (1977), FLYNN, GRISTWOOD, OWEN (1979) firmaram a idéia dos receptores histaminérgicos do subtipo H_2 serem os mediadores exclusivos dos efeitos inotrópicos positivos da HA sobre o miocárdio de cobaias.

A HA parece determinar alterações em todo o sistema de geração e condução do estímulo elétrico que precede a contração cardíaca. Além dos efeitos sobre o nó sinusal, já comentados, a HA, segundo WOLFF et al (1986), determina nas fibras atriais de condução, efeitos como hiperpolarização, aumento do potencial limiar, aumento da duração e amplitude do potencial de ação, e desenvolvimento de pós-despolarizações retardadas; efeitos mediados por receptores H_2 nas fibras do átrio direito e H_1 no átrio esquerdo.

Sobre o nó átrio-ventricular (AV) o efeito mais proeminente da HA parece ser a lentificação da condução mediada por receptores H_1 (FLAKE, ATANAKOVIC, GILLIS et al, 1967, LEVI, KUYE, 1974), embora a infusão de agonistas H_2 pareça aumentar a automaticidade do nó AV (HAGEMAN, URTHALER, ISOBE et al, 1979).

A ação da HA sobre as fibras de Purkinje e células ventriculares resulta basicamente no aumento da automaticidade normal dessas células especializadas, podendo desencadear, em concentrações suficientemente elevadas, contrações prematuras ou taquicardia ventricular, inclusive no coração normal (WOLFF et al, 1986).

Efeitos sobre o sistema vascular

As evidências de ação da HA sobre a microcirculação datam dos estudos feitos por DALE, LAIDLAW (1919), no início do século, quando foi observada, nos músculos lisos, uma resposta vasodepressora intensa à histamina.

A HA administrada sistemicamente reduz a pressão arterial em praticamente todas as espécies, que de acordo com LEVI et al (1982) é devido a dilatação dos vasos de resistência periféricos. Tanto os receptores H_1 quanto os H_2 parecem estar envolvidos nesse processo.

FOLKOW et al (1948) foram provavelmente os primeiros a demonstrar o envolvimento dos recetores H_1 na resposta vasodilatadora à HA. A participação dos receptores H_2 nessa resposta foi sugerida por BLACK et al (1972).

Estudos utilizando infusões de HA ou agonistas/antagonistas de receptores histaminérgicos demonstraram que a interação entre a HA e seus receptores H_1 e H_2 , é pelo menos em parte, tempo-dependente. (HARVEY, OWEN 1979). Através da ativação dos receptores H_1 e H_2 a histamina levaria a uma vasodilatação máxima, sendo que os receptores H_1 mediarium uma resposta rápida e

de curta duração e a ativação dos receptores H_2 , por outro lado, causaria vasodilatação mais lenta e de maior duração.

Embora a HA administrada sistemicamente reduza a resistência periférica total, a vasodilatação não ocorre igualmente em todos os tecidos. Uma grande limitação para a determinação mais precisa da resposta pressórica à histamina, nos diferentes tecidos ou sistemas, parece decorrer do próprio modelo experimental, de infusão sistêmica. Mecanismos reflexos acionados, como estimulação cardíaca reflexa, vasoconstrição reflexa, liberação de catecolaminas a partir do tecido cromafin, podem modificar a resposta local à HA. Por outro lado os protocolos experimentais com infusão local de HA também sofrem limitações, no que se refere a sua aplicabilidade em todos os órgãos e tecidos e no método de análise de seus efeitos (LEVI et al, 1982).

Controvérsia considerável, houve ao longo dos anos, em relação aos efeitos da HA sobre as artérias coronárias. O emprego de espécies animais diferentes, tipos de preparação utilizadas e a liberação direta/indireta de outras substâncias vasoativas podem ter levado a uma variação na interpretação dos resultados obtidos (GARLAND, KEATINGE, 1982, GINSBURG, BRISTOW, STINSON et al, 1980, MILLER, BOVE, 1988).

Pressupondo que as diferentes respostas observadas nas artérias coronárias pudessem ser derivadas da capacidade da HA ativar receptores específicos tanto na musculatura lisa vascular como no endotélio, TODA (1987) analisou o efeito da HA em artérias coronárias humanas isoladas de cadáveres. A partir desses resultados, sugeriu três diferentes ações da HA sobre as coronárias: relaxamento direto e mediado pelo endotélio, através da ativação dos receptores H_2 e H_1 respectivamente, e contração direta, mediada por receptores H_1 .

KEITOKU, MARUYAMA, TAKISHIMA (1990) considerando a proposição anterior procuraram investigar, ainda, se havia um mecanismo receptor

diferenciado entre as porções proximal e distal da artéria coronária humana. Os autores observaram uma hipercontratilidade à HA nas porções proximais, mas não nas distais. Esse aumento na contratilidade foi imputado como sendo decorrente principalmente da redução dos relaxamentos direto e mediado pelo endotélio, do que de um aumento na contração propriamente, permanecendo obscuros os mecanismos subjacentes a esses efeitos.

YANG, DIEDRICH, SCHNEIDER et al (1989) investigaram se a HA e a serotonina (outro produto derivado das plaquetas) evocavam diferentes respostas endotélio-dependentes em artérias e veias humanas utilizadas na cirurgia de revascularização miocárdica. Os resultados desse trabalho levaram a proposição da existência das três diferentes ações da HA, incluindo o relaxamento endotélio-dependente apenas nas artérias mamárias, não observado nas veias safenas, o que segundo os autores poderia contribuir para uma melhor função e patência das pontes mamárias comparadas às safenas.

Estudando os efeitos da HA em artérias coronárias humanas *in vivo* OKUMURA, YASUE, MATSUYAMA (1991), observaram que a estimulação dos receptores histaminérgicos H_1 levou a vasodilatação coronária na maioria dos pacientes, especialmente naqueles sem coronariopatia avançada, presumivelmente através da liberação de um fator relaxador pelo endotélio.

Recentemente, MALTE, FEELISH, KREBBER et al (1993) a partir de seu estudo feito em cobaias, propuseram ser o óxido nítrico o fator relaxador derivado do endotélio, liberado a partir da ativação dos receptores H_1 .

A HA parece determinar um aumento na permeabilidade vascular, que segundo MAJNO, PALADE (1961), ocorre predominantemente nas pequenas vênulas, levando ao movimento de macromoléculas e água do espaço intravascular para o extravascular. O edema ocorre quando o fluxo para o espaço extravascular excede a taxa de filtração linfática. A alteração da permeabilidade parece estar ligada

à ativação tanto dos receptores H_1 (DOBBINS, CREED, DABNEY, 1979) como dos receptores H_2 (DABNEY, SWINDALL, JOHNSTONE et al, 1977).

1.3.4 Liberação em situações adversas

Na década de 30, ANREP, BARSOUM (1935), analisando o comportamento da HA no músculo esquelético em contração, observaram o aparecimento de considerável quantidade de HA no sangue venoso, emergente do músculo. Na situação de repouso, sob condições adequadas de suprimento sanguíneo, como salientam os autores, o equivalente de HA do sangue venoso era o mesmo que do sangue arterial. O excesso de HA era tanto maior quanto mais intensa e mais prolongada a contração. Foi sugerido que a HA poderia ser um elemento crítico na determinação do aumento do fluxo sanguíneo para os músculos em exercício, uma vez que havia uma correlação de tempos entre a ocorrência de hiperemia após a contração muscular e a liberação de HA, além da relação entre magnitude da hiperemia e quantidade de HA no sangue venoso.

Interessados em investigar se o mesmo ocorria com o músculo cardíaco, ANREP et al (1936), utilizando preparações coração-pulmão, submeteram o miocárdio a situações de estresse como anóxia, aumento da pressão arterial e administração de dióxido de carbono. Foi observado em todas essas situações um aumento da quantidade de HA no sangue emergente do seio coronário, sendo sugerido que no miocárdio, situações de anóxia ou uma mudança no equilíbrio ácido-base no interior da célula em contração, levaria a uma maior liberação de HA.

A partir de então muitos estudos foram desenvolvidos envolvendo o comportamento da HA em condições adversas como reações anafiláticas, em resposta a administração de determinados compostos químicos, na isquemia miocárdica, entre outras .

O exercício físico pode ser considerado um modelo especial de "condição adversa" imposta ao organismo, dada a complexidade dos eventos que ocorrem na adaptação dos vários sistemas à nova situação, sem entretanto recair na esfera da fisiopatologia.

Em 1959, SCHAYER et al constataram um aumento adaptativo na atividade da enzima histidina descarboxilase em resposta ao estresse não específico. Em situações adversas, haveria uma maior quantidade de histamina "induzida", proveniente do estímulo de sua síntese e não apenas de sua liberação a partir de estoques celulares. Em seguida, o mesmo autor propôs que a atividade enzimática da histidina descarboxilase aumentada, provavelmente, tinha como fim proporcionar um regime circulatório mais eficiente para atender às necessidades homeostáticas de fluxo sanguíneo. A necessidade local de sangue e oxigênio seria um dos estímulos indutores da ativação enzimática. (SCHAYER, 1960, SCHAYER, 1962).

HAKANSON (1963) observou que a capacidade de formação de HA em determinadas situações, como na atividade muscular, poderia ser facilitada pelo fato da histidina descarboxilase ser mais ativa em pH ácido.

GRAHAM, KAHLSON e ROSENGREN (1964) analisaram o comportamento da capacidade de formação de histamina (HFC) em animais, (ratos e camundongos) submetidos ao exercício físico. Dentre outras situações analisadas, observou-se que o exercício evoca elevação da HFC na pele, músculo esquelético, diafragma e pulmão. Foi constatado que a HFC no músculo esquelético em repouso é muito menor. Durante o exercício ocorre aumento da HFC que permanece elevada por pelo menos três horas após o retorno para o estado de repouso, reforçando a idéia da participação da HA como participadora da vasodilatação induzida pelo exercício.

Em indivíduos atletas e não atletas , exercícios extenuantes realizados sob uma temperatura ambiente agradável, pareceram também determinar uma elevação da HFC, de acordo com os achados de VAISFELD, KASSIL (1981).

Trabalhando com determinações séricas de HA, PAVLIK, FRENKL, SZOTS et al (1980) observaram elevação do nível de histamina, em atletas de provas de longa duração, o mesmo não ocorrendo nos atletas especializados em exercícios de curta duração (tipo "explosivos"). As atividades físicas de longa duração são de natureza essencialmente aeróbica, onde a otimização da adequação do sistema de transporte de nutrientes e oxigênio é fundamental para suprir as novas demandas energéticas. É possível que a elevação da HA, nessa situação, relacione-se com esse processo de adequação.

De acordo com os fatos expostos acima, parece ser aceitável o pressuposto de que existe uma funcionalidade da HA na homeostasia do sistema cardiovascular. Entretanto, os mecanismos subjacentes a essa funcionalidade permanecem obscuros, além de ainda não estar claro se a liberação dessa substância em determinadas condições, encontra-se dentro dos limites de ação fisiológica ou recai na esfera da fisiopatologia, dada a grande capacidade de ações biológicas dessa substância sobre os sistemas orgânicos, inclusive e especialmente o cardiovascular.

2 - OBJETIVOS

2- OBJETIVOS

Considerando-se a importância atual do exercício físico, no que se refere a sua ampla utilização, com as mais diversas finalidades, e as adaptações peculiares que imprime ao organismo, de acordo com a maneira como é aplicado (agudamente ou sob forma de treinamento);

considerando-se que parâmetros bioquímicos como glicogênio hepático e muscular e lactato sanguíneo são marcadores importantes na avaliação da resposta do metabolismo glicídico ao exercício;

considerando-se a possibilidade de liberação de histamina (uma amina com potentes ações biológicas sobre vários sistemas, principalmente o cardiovascular), a partir de tecidos que a estocam, em situações de estresse;

considerando-se a utilização intensa, na atualidade, de suplementações vitamínicas por indivíduos sedentários e atletas;

considerando-se a controvérsia existente na literatura acerca dos efeitos decorrentes ou relacionados a tal prática "nutricional" no que se refere a algumas variáveis bioquímicas, principalmente na condição de exercício; e finalmente,

considerando-se a semelhança entre a cobaia e o homem no que diz respeito à incapacidade de síntese de ácido ascórbico, e ao comportamento de determinadas variáveis bioquímicas, principalmente histamina, em resposta ao estresse;

propusemo-nos neste trabalho a avaliar , em cobaias **sedentárias** e **treinadas** o efeito do exercício agudo e do ácido ascórbico sobre peso corpóreo total, diâmetro das fibras musculares esqueléticas e sobre variáveis bioquímicas, tais como: ascorbato na glândula adrenal, glicogênio muscular e hepático, lactato sanguíneo e histamina muscular cardíaca e esquelética

***3 - MATERIAL
e MÉTODOS***

3- MATERIAL E MÉTODOS

3.1 ANIMAIS

Foram utilizadas cobaias (*Cavia porcellus*) fêmeas, com três meses de idade, fornecidas pelo Centro de Bioterismo da Universidade Estadual Paulista (UNESP) - Campus de Botucatu - SP, mantidas no Biotério do Departamento de Fisiologia e Biofísica da Universidade Estadual de Campinas, a partir de sessenta (60) dias de idade.

Os animais foram mantidos em caixas de polietileno, com dimensões 100x70x30 cm (no máximo dez animais por caixa), em sala climatizada,

com controle de temperatura (entre 24°C e 28°C) e luminosidade (ciclo de 12 horas claro e 12 horas escuro).

Água, ração Purina para cobaias e complemento de fibras (gramíneas - *Brachiaria decumbens*) foram fornecidos *ad libitum*.

3.2 GRUPOS EXPERIMENTAIS

Foram estabelecidos oito grupos experimentais :

1. **SED-R-N**: cobaias sedentárias mantidas em repouso até o sacrifício, tendo recebido dieta normal;
2. **SED-R-H**: cobaias sedentárias mantidas em repouso até o sacrifício, tendo recebido suplementação de vitamina C;
3. **SED-A-N**: cobaias mantidas em condições sedentárias no cativeiro, submetidas ao exercício agudo de natação, imediatamente antes do sacrifício, tendo recebido dieta normal;
4. **SED-A-H**: cobaias mantidas em condições sedentárias no cativeiro, sendo submetidas ao exercício agudo de natação, imediatamente antes do sacrifício; tendo recebido suplementação de vitamina C;
5. **TRE-R-N**: cobaias que realizaram, diariamente, exercício dinâmico prolongado de natação, mantidas em repouso (48 horas) após a última sessão de natação até o sacrifício, tendo recebido dieta normal;
6. **TRE-R-H**: cobaias que realizaram, diariamente, exercício dinâmico prolongado de natação, mantidas em repouso (48 horas) após a última sessão de natação até o sacrifício; tendo recebido suplementação de vitamina C;

7. **TRE-A-N**: cobaias que realizaram, diariamente, exercício dinâmico prolongado de natação, sendo submetidas ao exercício agudo de natação, imediatamente antes do sacrifício, tendo recebido dieta normal;

8. **TRE-A-H**: cobaias que realizaram, diariamente, exercício dinâmico prolongado de natação, sendo submetidas ao exercício agudo de natação, imediatamente antes o sacrifício; tendo recebido suplementação de vitamina C.

3.3 CARACTERÍSTICAS DO TREINAMENTO FÍSICO

As cobaias do grupo treinado (**TRE**) foram submetidas a um programa de treinamento que consistiu de exercício físico dinâmico prolongado de natação, sem acréscimo de resistência corporal. Esse treinamento foi realizado em tanques com dimensões de 100 x 80 x 80 cm, com controle da temperatura da água ($34^{\circ}\text{C} \pm 1$). As sessões foram realizadas sempre no mesmo horário, no período da manhã.

Inicialmente os animais foram adaptados apenas ao meio aquático, iniciando com permanência de 5 minutos no primeiro dia e 10 minutos no segundo dia, no tanque contendo água em quantidade suficiente para se obter uma profundidade de 10 cm. Nos três dias subsequentes, já com um nível de água suficiente para impedir que o animal se apoiasse no fundo do tanque, cinco minutos de nado livre. A partir de então, a cada três dias foram acrescentados cinco minutos a cada sessão de treinamento físico até serem atingidos os trinta minutos pré-estabelecidos, conforme mostra a **tabela 3.1**.

Os animais dos grupos sedentários não sofreram nenhuma manipulação, exceto aquelas relacionadas à limpeza das gaiolas, fornecimento de água, ração e gramíneas, pesagem e remarcação numérica.

A suplementação de ácido ascórbico foi feita diariamente, através da administração oral de ácido ascórbico³ (35 mg/Kg peso), utilizando-se um conta-gotas.

Tab. 3.1 Esquema dos períodos de adaptação e treinamento físico propriamente dito, de acordo com os dias da semana e duração das sessões de natação.

Dias da semana	- ADAPTAÇÃO -			- TREINAMENTO -			
	Sem.1	Sem.2	Sem.3	Sem4	Sem5	Sem.6	Sem.7
segunda	5 min*	10 min	20 min	30 min	30 min	30 min	30 min
terça	10 min*	10 min	20 min	30 min	30 min	30 min	30 min
quarta	5 min**	15 min	25 min	30 min	30 min	30 min	30 min
quinta	5 min	15 min	25 min	30 min	30 min	30 min	30 min
sexta	5 min	15 min	25 min	30 min	30 min	30 min	30 min
sábado	10 min	20 min	30 min	30 min	30 min	30 min	30 min
domingo	--	--	--	--	--	--	--

* utilizando-se quantidade de água suficiente para se obter profundidade de 10 cm

** nas demais sessões, com água o suficiente para impedir que o animal se apoiasse no fundo do tanque.

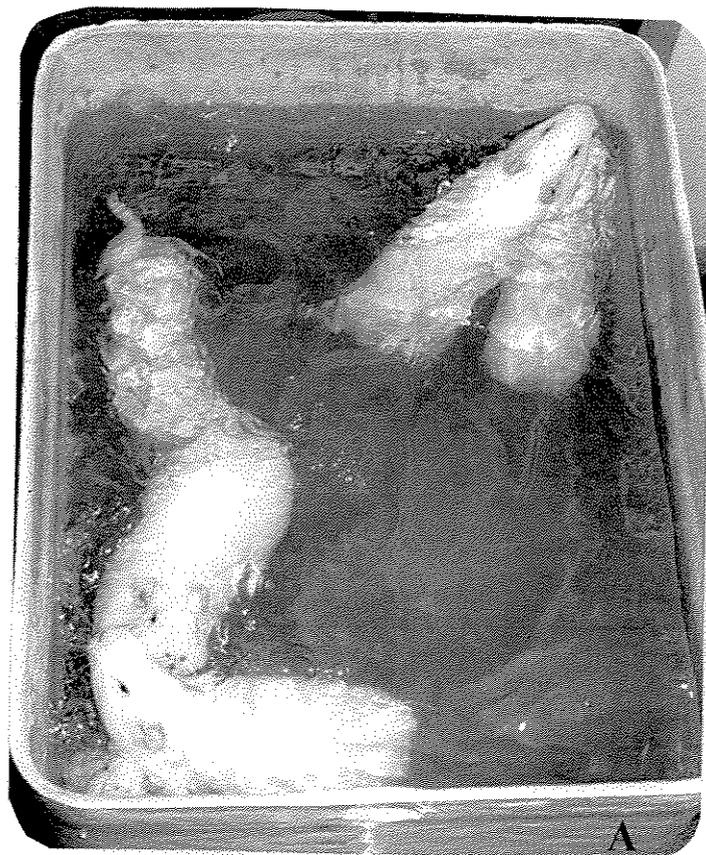


Fig. 3.1 Cobaias em exercício agudo de natação

3.4 PROCEDIMENTO

Ao término do período de treinamento físico, os animais foram distribuídos em dois grupos para serem submetidos ou não ao exercício agudo, imediatamente antes do sacrifício. As cobaias foram mantidas com alimentação até o momento do sacrifício, realizado no período da manhã.

Logo após a decapitação por guilhotina, foi colhido sangue por meio de tubos capilares, para dosagem de lactato. A seguir, seccionou-se os membros anteriores para dissecação dos músculos tríceps. Foram utilizados do tríceps esquerdo, fragmentos do seu terço médio com peso em redor de 250 mg para dosagem de glicogênio e de aproximadamente 100 mg para análise histológica. A totalidade do tríceps direito, aproximadamente 2000 g, foi destinada à dosagem de histamina.

Os animais foram então fixados em placa cirúrgica, e submetidos a toracotomia ventral seguida de lapararotomia mediana, com dissecação e remoção do coração para dosagem de histamina, aproximadamente 500 mg do lobo inferior do fígado para determinação de glicogênio e a adrenal esquerda para dosagem de ascorbato.

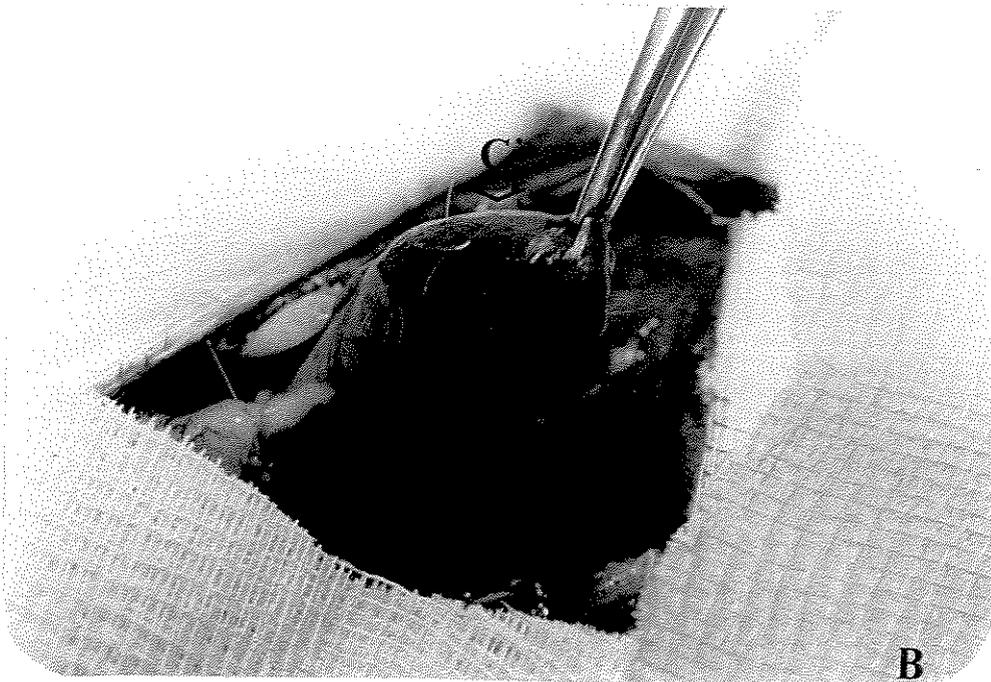
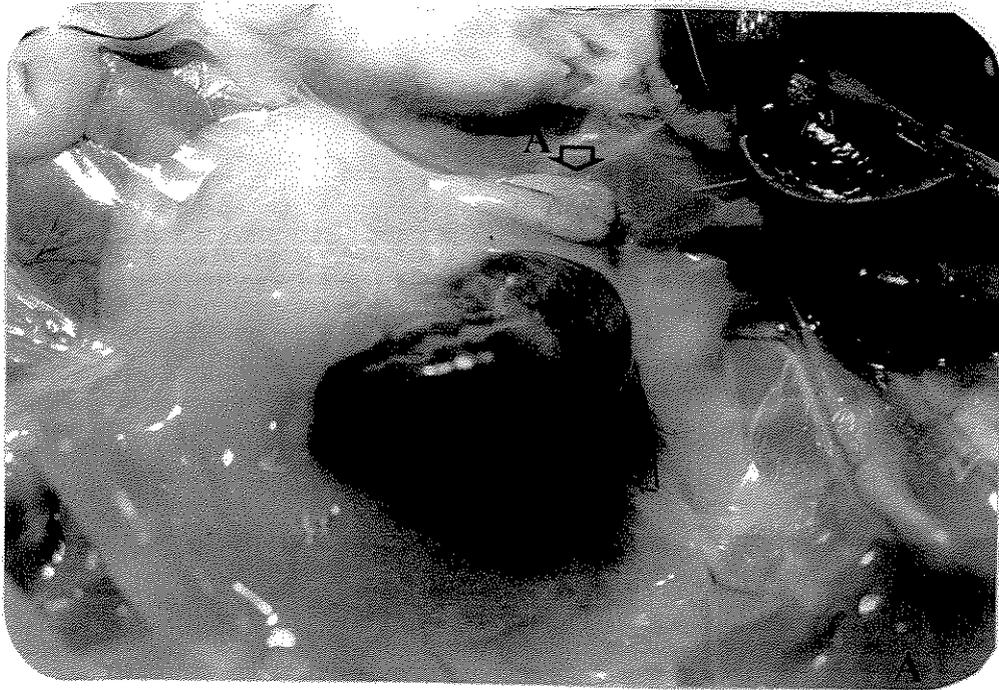


Fig. 3.2 Dissecção mostrando *in situ*: A. glândula adrenal (A*); B. coração (C) de uma cobala adulta.

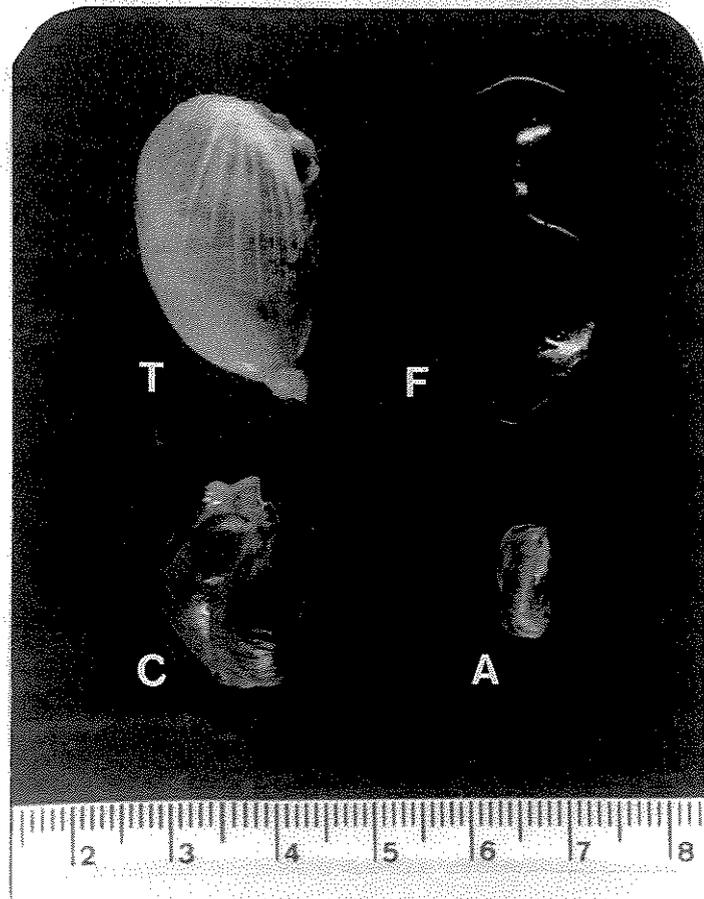


Fig. 3.3 Músculo tríceps (T), lobo inferior hepático (F); coração (C); adrenal (A), após a extração. Amostras de uma cobala adulta.

3.5 HISTOLOGIA

As amostras da cabeça longa do tríceps braquial esquerdo, extraídas para a análise histológica, foram fixadas em solução de formol a 10% durante 48 horas, desidratadas em série ascendente de álcoois, diafanizadas em xilol e emblocadas em parafina. Utilizando-se um micrótomo rotativo, foram obtidos cortes transversais de fibras musculares estriadas com 7 μ m de espessura, colhidos em laminulas e corados pela técnica de hematoxilina e eosina (H/E) segundo DUBOWITZ, BROOKE (1973).

A seguir foram realizadas fotomicrografias de campos escolhidos aleatoriamente, de modo que o perfil celular da secção transversal das fibras musculares fosse ampliado em 270 vezes. As áreas das fibras foram medidas com auxílio de uma mesa digitadora⁴ e *software* "AUTOCAD".

3.6 DETERMINAÇÃO DE ÁCIDO ASCÓRBICO

O procedimento consistiu em macerar a adrenal em 1 ml de solução de ácido perclórico 0,4 N, acrescentar 5 ml de ácido metafosfórico a 2,5% e a seguir filtrar o produto obtido. Essa operação foi realizada dentro de uma caixa de isopor contendo gelo, pelo fato do ácido ascórbico ser uma substância facilmente oxidável.

A determinação do ácido ascórbico foi realizada utilizando o método de MINDLIN, BUTLER (1938) que baseia-se na capacidade dessa vitamina em reduzir o 2,6-diclorofenol-indofenol, substância que possui a propriedade de apresentar coloração azul em solução neutra e coloração rosa em solução ácida.

⁴ SUMMASKETCH - H

Para a determinação do ácido ascórbico foram empregadas as soluções abaixo especificadas:

- **solução A** - solução de cor preparada a partir da diluição de 30 mg de 2,6-diclorofenol-indofenol em 500 ml de água destilada;
- **solução B** - solução tampão preparada a partir da diluição de 22,65 g de acetato de sódio e 1,3 ml de solução de ácido acético 0,5 M em água destilada até completar o volume de 500 ml;
- **solução C** - preparada a partir da adição de 1 volume de solução A (corante) e 1 volume de solução B (tampão);
- **solução concentrada de ácido ascórbico** - preparada a partir da diluição de 10 mg de ácido ascórbico em 10 ml de ácido metafosfórico a 2,5%;
- **solução mãe** - preparada a partir de 100 µl da solução concentrada de ácido ascórbico, a qual foi novamente diluída em 10 ml de ácido metafosfórico a 2,5 % (10 µg/ml).

Foi traçada uma curva padrão empregando-se soluções de ácido ascórbico com concentrações de 2, 4, 6, 8 e 10 µg/ml, preparadas a partir da solução mãe de ácido ascórbico (10 µg/ml) e ácido metafosfórico a 2,5 %. Essas concentrações foram plotadas contra as respectivas intensidades colorimétricas e determinaram pontos que definiram uma curva. O branco foi obtido com 1 ml de água destilada e 1 ml de solução C.

A determinação de ascorbato foi feita a partir de um volume de 0,5 ml de amostra, acrescentando-se 0,5 ml de ácido metafosfórico a 2,5 % e 1 ml de solução C.

A leitura dos padrões e das amostras foram realizadas em espectrofotômetro⁵, utilizando comprimento de onda de 520 nm. O aparelho foi calibrado utilizando-se 2 ml de ácido metafosfórico a 2,5 % como "zero".

O cálculo da concentração do ascorbato tecidual (CAT) foi efetuado de acordo com a seguinte operação:

$$\text{CAT } \mu\text{g/mg} = \frac{\text{Am } (\mu\text{g/ml}) \times \text{V}_d(\text{ml})}{\text{m (mg)}}$$

onde:

CAT = concentração de ascorbato tecidual;

Am = concentração da amostra;

V_d = volume de diluição - 1 ml de solução de ácido perclórico 0,4 N acrescida de 5 ml de ácido metafosfórico a 2,5 %;

m = massa da glândula adrenal.

3.7 DETERMINAÇÃO DO GLICOGÊNIO MUSCULAR

A determinação de glicogênio foi realizada empregando o método de SJORGREEN, NORDENSKJOLD, HOLMGREN et al (1938) para extração e de HASSID, ABRAHAMS (1957) para ensaio colorimétrico, consistindo de duas etapas:

1ª etapa: extração do glicogênio

1. homogeneização das amostras de tecido muscular (em torno de 250 mg), as quais foram colocadas em tubos de ensaio de 15 ml, com conteúdo prévio de 1 ml de solução concentrada de hidróxido de potássio a 30%;

2. selagem dos tubos com bolas de vidro e permanência deles em banho-maria durante 60 minutos, para digestão do tecido;

⁵ B 382 - Micromal

3. agitação mecânica dos tubos durante 1 minuto e em seguida, adição de 0,1 ml de solução de sulfato de sódio saturado;
4. adição de 3,5 ml de álcool etílico e agitação constante em água fervente, usando bastões de vidro, até o início da ebulição do álcool;
5. centrifugação a 3000 rpm, durante 5 minutos, com retirada do sobrenadante com auxílio de trompa d'água;
6. diluição do precipitado com 1 ml de água destilada, previamente aquecida, agitando fortemente;
7. nova adição de 3,5 ml de álcool etílico e agitação constante em água fervente, até o início da ebulição do álcool;
8. nova centrifugação a 3000 rpm, durante 5 minutos, com retirada do sobrenadante com trompa d'água; e,
9. diluição do precipitado em 5 ml de água destilada em balões volumétricos.

2ª etapa: colorimetria com antrona

A determinação colorimétrica do conteúdo de glicogênio das amostras musculares homogeneizadas foi feita de acordo com o seguinte procedimento:

1. colocação em cada tubo 0,2 ml de homogenado de músculo com acréscimo de 0,8 ml de água destilada;
2. adição de 2 ml da solução de antrona e posterior agitação mecânica;
3. permanência das amostras em banho fervente durante 15 minutos e posterior resfriamento à temperatura ambiente.

Foi traçada uma curva padrão empregando-se soluções de concentrações 10, 20, 40, 60 e 80 µg/ml, preparadas a partir de 0,5, 1, 2, 3, e 4 ml

da solução mãe de glicose (200mg/100 ml). Essas concentrações foram plotadas contra as respectivas intensidades colorimétricas relativas e determinaram pontos que definiram uma curva. O padrão branco foi obtido com 1,0 ml de água destilada e 2 ml de solução de antrona.

Os procedimentos empregados para a determinação dos padrões seguiram os passos abaixo descritos:

1. adição de 2 ml de solução de antrona (200 mg de antrona diluído em 100 ml de ácido sulfúrico concentrado) aos tubos numerados de P₁₀ a P₃₀, contendo previamente 1 ml dos respectivos padrões preparados; e,

2. após permanência dos tubos durante 15 minutos em banho-maria, resfriamento à temperatura ambiente.

A leitura dos padrões e das amostras foram feitas em espectrofotômetro⁶. O comprimento de onda usado foi de 650 nm e o aparelho foi zerado com o branco. O cálculo da concentração de glicogênio (CGT) foi efetuado utilizando a equação:

$$\text{CGT (mg/100mg)} = \frac{V_d}{m(\text{mg})} \times \frac{1}{V_a(\text{ml})} \times \alpha \times \text{D.O.} \times 0,1$$

onde:

V_d = volume da diluição;

m = massa tecidual;

V_a = volume da amostra;

α = somatório (Σ) das concentrações dos padrões dividido por Σ das concentrações das absorvâncias dos padrões;

D.O. = densidade ótica ou absorvância da amostra;

0,1 = fator de correção do cálculo.

⁶MICRONAL - B 382

3.8 DETERMINAÇÃO DO GLICOGÊNIO HEPÁTICO

A determinação do glicogênio hepático foi efetuada de modo semelhante a do muscular, sendo ressaltadas as diferenças adiante descritas:

1. os fragmentos extraídos do fígado, após o sacrifício dos animais, foram fracionados de modo a se obter um peso ao redor de 500 mg, por isso, necessitando de 2 ml de solução concentrada de hidróxido de potássio a 30% para a digestão tecidual;

2. a precipitação de glicogênio hepático foi feita em 0,1 ml de sulfato de sódio e 7 ml de etanol e, após a extração, o precipitado foi suspenso em 25 ml de água destilada deionizada.

3.9 DETERMINAÇÃO DO LACTATO SANGÜÍNEO

O sangue coletado em seguida a decapitação do animal em capilares previamente heparinizados e calibrados para 25 μ l foi diluído em 50 μ l de solução de fluoreto de sódio a 1%. A concentração de lactato foi determinada através de um analisador eletroquímico de lactato⁷

O princípio de operação desse aparelho para determinação do ácido láctico baseia-se primariamente na existência de um sensor de prova e três camadas de membranas. A camada média contém a enzima L-lactato oxidase (Lo_x), numa forma imobilizada.

A face da prova, coberta pela membrana, está situada em câmara contendo tampão na qual é injetada a amostra. Uma parte do substrato difunde através da membrana e quando em contato com a enzima L-lactato oxidase o mesmo é rapidamente oxidado produzindo peróxido de hidrogênio ($H_2 O_2$) (reação 1). O

⁷ lactímetro - YELLOW SPRINGS INSTRUMENTS (YSI) 2300 STAT

peróxido de hidrogênio é então oxidado no anodo de platina produzindo elétrons (reação 2).



anodo de platina

Um equilíbrio dinâmico é encontrado quando a taxa de produção do peróxido de hidrogênio e a taxa na qual o mesmo deixa a camada que contém a enzima são equivalentes, fato indicado por um *steady state* de resposta. O fluxo de elétrons é linearmente proporcional à concentração *steady state* de peróxido de hidrogênio e, portanto, proporcional à concentração de lactato em mM.

3.10 DETERMINAÇÃO DA HISTAMINA

3.10.1 Ensaio Fluorimétrico

A determinação do teor de histamina em cada amostra de tecido muscular foi feita por meio de análise fluorimétrica, empregando-se o método de SHORE, BURKHALTER, COHN (1959), com algumas modificações sugeridas por NOAH, BRAND (1961), REDLICK, GLICK (1965), ANTON, SAYRE (1968), e HAKANSON, RONNBERG, SJOLUND (1972), visando obter maior sensibilidade e especificidade.

O ensaio fluorimétrico consistiu de duas fases fundamentais: extração da histamina e análise fluorimétrica com o o-ftaldialdeído (OPT)⁸.

⁸ o-phthalic-dicarbonylaldehyde, ALDRICH

Fase I - extração da histamina

Depois de pesada, cada amostra tecidual passou pelos pelos processos:

1. homogeneização em 12 ml de ácido perclórico 0,4N, utilizando-se um homogeneizador elétrico; e após repouso de 5 minutos, centrifugação do volume total;

2. transferência de 3 ml do fluido sobrenadante em um balão (B₁) de vidro arrolhado, com conteúdo prévio de 0,5 ml de solução de hidróxido de sódio 5N, 1 grama de cloreto de sódio e 10 ml de n-butanol, acrescida de 1 ml de solução de ácido clorídrico 0,1N, para corresponder à adição feita no "balão de recuperação";

3. agitação da mistura por 10 minutos, transferência do conteúdo total para tubo de centrifuga de vidro arrolhado e centrifugação. A finalidade desta fase é a extração da histamina no butanol, e o meio adequado para que isto ocorra é uma solução aquosa com pH alcalino e alta concentração de sal;

4. remoção da fase aquosa inferior por aspiração. Acréscimo de 5 ml de solução de hidróxido de sódio 0,1N saturada com cloreto de sódio à fase orgânica (butanol + histamina). Agitação durante 3 minutos. Esta operação consiste na "lavagem do butanol", com a finalidade de remover eventuais resíduos de histidina, que ficariam retidos na solução de hidróxido de sódio;

5. centrifugação e transferência de 8 ml do butanol sobrenadante para um balão (B₂) de vidro arrolhado, contendo 3 ml de solução de ácido clorídrico 0,1N e 15 ml de n-heptano;

6. agitação durante 5 minutos, centrifugação do conteúdo total em tubo de centrífuga de vidro arrolhado e, transferência de 2 ml da fase aquosa inferior para um tubo de ensaio.

Fase II - análise fluorimétrica com o o-ftaldialdeído (OPT)

1. Acréscimo de 0,4 ml de solução de hidróxido de sódio 1N ao extrato ácido no tubo de ensaio. A histamina condensa-se com o OPT em solução fortemente alcalina (pH: 12,4 - 12,7);

2. adição de 0,1 ml de solução de OPT a 0,2% em metanol. Esta solução reage prontamente com a histamina, formando um produto que emite fluorescência específica a 450 nm quando excitado a 360 nm ;

3. após 4 minutos, acréscimo de 0,2 ml de solução de ácido cítrico 2M a fim de estabilizar, com acidificação (pH: 2- 3,5), o lábil produto fluorescente formado. A fluorescência emitida pelo produto final praticamente se mantém por 30 a 40 minutos;

4. transferência da solução problema para uma cubeta especial de quartzo e leitura no espectrofotofluorímetro⁹

Para cada amostra, a intensidade da fluorescência relativa, que se obtém da leitura, pode ser considerada igual a soma da intensidade do produto **histamina + OPT**, que é específico e a do **solvente + demais solutos** utilizados, que podem fluorescer inespecificamente e constituem o branco. A partir desta consideração, a intensidade de fluorescência correspondente a histamina foi determinada pela equação:

$$F_h = F_T - F_b \quad (I)$$

onde

F_h = intensidade de fluorescência relativa devido a histamina ligada ao OPT;

F_T = intensidade total de fluorescência relativa, obtida da leitura;

F_b = intensidade de fluorescência relativa do branco, obtida também da leitura.

⁹ Perkin - Elmer - modelo MPS 44B

O preparo da solução do branco realizou-se através do mesmo procedimento das demais amostras, utilizando-se 3 ml de solução de ácido perclórico 0,4 N, seguida de centrifugação. A seguir, procedeu-se conforme a descrição da primeira fase do ensaio fluorimétrico do item 3 (FASE I).

Para detectar a quantidade de histamina recuperada pelo ensaio fluorimétrico, à mesma solução empregada para o branco, acrescentou-se 1 ml de solução de ácido clorídrico 0,1 N, contendo 2 µg de histamina¹⁰. Os 4 ml de solução histamínica resultante (solução de recuperação ou padrão interno) de concentração 0,5 µg/ml, foram adicionados a um balão (B_{IR} = balão de recuperação) e prosseguiu-se ao tratamento conforme item "3" (FASE I) do ensaio fluorimétrico.

Admitindo-se que a solução de recuperação (R) acrescentada na concentração de 0,5 µg/ml no balão B_{IR}, fornece na cubeta uma solução de concentração C_{cubR}; então uma solução problema (P) acrescentada no seu balão B_{IP}, numa concentração C_{BIP}, fornecerá, na cubeta, uma solução de concentração C_{cubP}, como descrito:

$$\frac{0,5 \mu\text{g/ml}}{C_{\text{CubR}}} = \frac{C_{\text{BIP}}}{C_{\text{CubP}}} \quad \text{donde} \quad C_{\text{BIP}} = \frac{0,5 \times C_{\text{CubP}}}{C_{\text{CubR}}} \quad (\mu\text{g/ml}) \quad (\text{II})$$

As concentrações C_{cubP} e C_{cubR} foram determinadas introduzindo-se a respectiva intensidade de fluorescência num gráfico de curva padrão.

Em cada etapa da análise fluorimétrica foi traçada uma curva padrão empregando-se soluções histamínicas de concentrações 0,05; 0,10; 0,25; 0,50 e 1,0 µg/ml (padrões externos) e o branco. A relação das respectivas intensidades de fluorescência relativa em razão dessas concentrações de histamina

¹⁰ Histamine dihydrochloride - SIGMA

definiram uma reta. A solução de ácido clorídrico 0,1N foi utilizada como branco padrão, pois foi também utilizada como solvente da histamina.

O tratamento fluorescente seguiu os procedimentos descritos na FASE II do ensaio fluorimétrico, sendo pipetados 2 ml de cada solução padrão, inclusive do branco padrão.

3.10.2 Cálculo da concentração de histamina

A aplicação da fórmula II, a cada amostra, permitiu determinar a sua respectiva concentração de adição ao balão B₁. Contudo, a histamina ao passar para o balão B₁, já havia sofrido 2 processos de diluição.

Primeiro processo : ocorreu durante a homogeneização do tecido em 12 ml de solução de ácido perclórico 0,4 N, obedecendo à equação:

$$FD_1 = \frac{|V_{ap}| + |V_o|}{|M_o|} \quad (III)$$

onde

FD₁ = fator indicativo da quantidade de vezes em que a concentração de histamina tornou-se menor

|V_{ap}| = módulo do volume de solução de ácido perclórico, expresso em ml (por conveniência 12 ml/g de tecido, em todos os experimentos)

|V_o| = módulo do volume da amostra de tecido, dissolvida, expresso em ml;

|M_o| = módulo da massa de amostra, expresso em gramas.

Segundo processo: Ocorreu durante a diluição de 3 ml da solução da amostra em 4 ml, pelo acréscimo de 1 ml da solução 0,1 N de ácido clorídrico ao balão B₁. A diluição foi definida pela equação:

$$FD_2 = 4/3 \quad (IV)$$

onde

FD_2 = fator que indica quantas vezes a concentração de histamina tornou-se menor, nesta segunda diluição.

Para determinar a concentração real de histamina (CHT - concentração de histamina tecidual) nas amostras de tecido muscular, foi então necessário multiplicar a concentração C_{BIP} , encontrada através da equação II, pelos fatores de diluição:

$$CHT (\mu g/g) = \frac{|V_{ap}| + |V_a|}{|M_a|} \times \frac{4}{3} \times \frac{0,5 \times C_{CubP}}{C_{CubR}} \quad (V)$$

3.11 TRATAMENTO ESTATÍSTICO

Procurando atender as exigências do modelo matemático mais recomendável para cada campo dos delineamentos estatísticos, foram aplicados os testes abaixo (ANDERSEN, 1991). O nível de significância estabelecido foi de $p \leq 0,05$.

1. análise de regressão através de polinômios ortogonais para avaliação do ganho semanal de peso corpóreo;
2. paramétrico "t de student" aos valores biométricos não pareados, referentes aos aspectos microestruturais teciduais;
3. paramétrico "Scheffé", posteriormente à análise de variância, aos valores bioquímicos não pareados referentes às concentrações de ácido ascórbico, glicogênio e lactato;

4. paramétrico “student-Newman-Keuls”, também posteriormente à análise de variância, para valores não pareados referentes às concentrações de histamina.

4 - RESULTADOS

4. RESULTADOS

4.1 ANÁLISES MORFOLÓGICAS E BIOMÉTRICAS

4.1.1 Variação semanal do peso corpóreo

Durante o período experimental, semanalmente, foram verificados os pesos corporais, de todos os grupos de cobaias, cujos resultados estão representados nas **tabelas 4.1, 4.2 e 4.3** e nas **figuras 4.1, 4.2, e 4.3**.

Considerando-se que o exercício agudo realizado na ocasião do sacrifício não poderia ser considerado como um fator que pudesse influenciar no

ganho de peso ao longo de todo o protocolo experimental, optamos pela aglutinação dos subgrupos repouso (R) e agudo (A), sob um único: [R + A].

Tanto os animais sedentários como os treinados exibiram uma curva de ganho de peso semelhante entre os subgrupos com normo e hipervitaminose (SED-[R+A]-N vs SED-[R+A]-H, e TRE-[R+A]-N vs TRE-[R+A]-H). Notou-se portanto, que a condição de hipervitaminose não influenciou o ganho de peso tanto no grupo de animais treinados como no grupo de animais sedentários.

Quando comparamos o ganho de peso do grupo treinado ao do grupo sedentário, independentemente das condições de exercício agudo antes do sacrifício e de hipervitaminose, uma vez que foram condições que mostraram não interferir nessa grandeza, notamos um discreto achatamento da curva de ganho de peso dos animais treinados, entre as semanas 3 - 6 do período experimental (Figura 4.3), que no entanto, não teve significância estatística.

Tab. 4.1 Variação semanal do peso corpóreo (em gramas) de cobaias sedentárias (SED), com normo (N) e hipervitaminose (H) durante o período experimental.

SEMANAS	n=19 SED-[R+A]*-N		n=23 SED-[R+A]*-H	
	x	(dp)	x	(dp)
1	463.95	(46.63)	460.04	(36.25)
2	510.53	(47.50)	488.74	(37.59)
3	536.84	(51.60)	521.87	(37.59)
4	563.00	(59.06)	539.22	(44.78)
5	589.84	(61.97)	566.09	(44.77)
6	620.53	(66.79)	594.17	(47.75)
7	631.00	(78.33)	620.83	(49.41)
8	673.00	(73.17)	646.91	(51.95)

*x = média do peso corporal; dp = desvio padrão;
[R+A]*=subgrupos "repouso" e "agudo" agrupados*

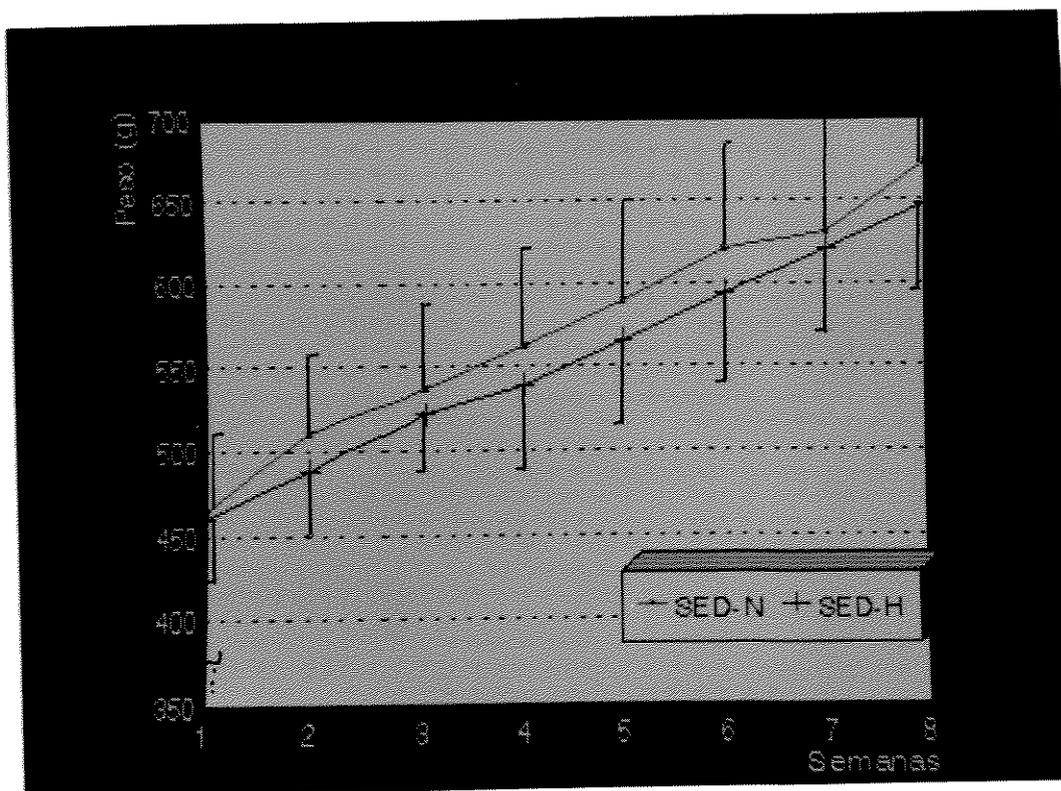


Fig. 4.1 Variação semanal da massa corporal de cobaias sedentárias (SED) com normo (N)^{*} e hipervitaminose (H)^{**}.
^{*}(R+A) = subgrupos "repouso" e "agudo" agrupados. As barras verticais representam o desvio padrão da média.
^{*} n=19; ^{**} n=23

Tab. 4.2 Variação semanal do peso corpóreo (em gramas) de cobaias treinadas (TRE), com normo (N) e e hipervitaminose (H), durante o período experimental.

SEMANAS	(n=23)		(n=22)	
	TRE-[R+A]*-N		TRE-[R+A]*-H	
	x	(dp)	x	(dp)
1	432.78	(37.27)	452.00	(33.40)
2	487.00	(47.52)	491.41	(39.99)
3	521.09	(51.72)	521.41	(45.00)
4	533.39	(49.57)	533.82	(47.80)
5	551.00	(55.78)	564.95	(45.90)
6	570.91	(53.82)	584.86	(48.21)
7	595.52	(54.67)	610.27	(50.64)
8	626.17	(59.27)	644.68	(50.76)

*x = média do peso corporal; dp = desvio padrão;
[R+A]* = agrupamento dos subgrupos "repouso" e "agudo"*

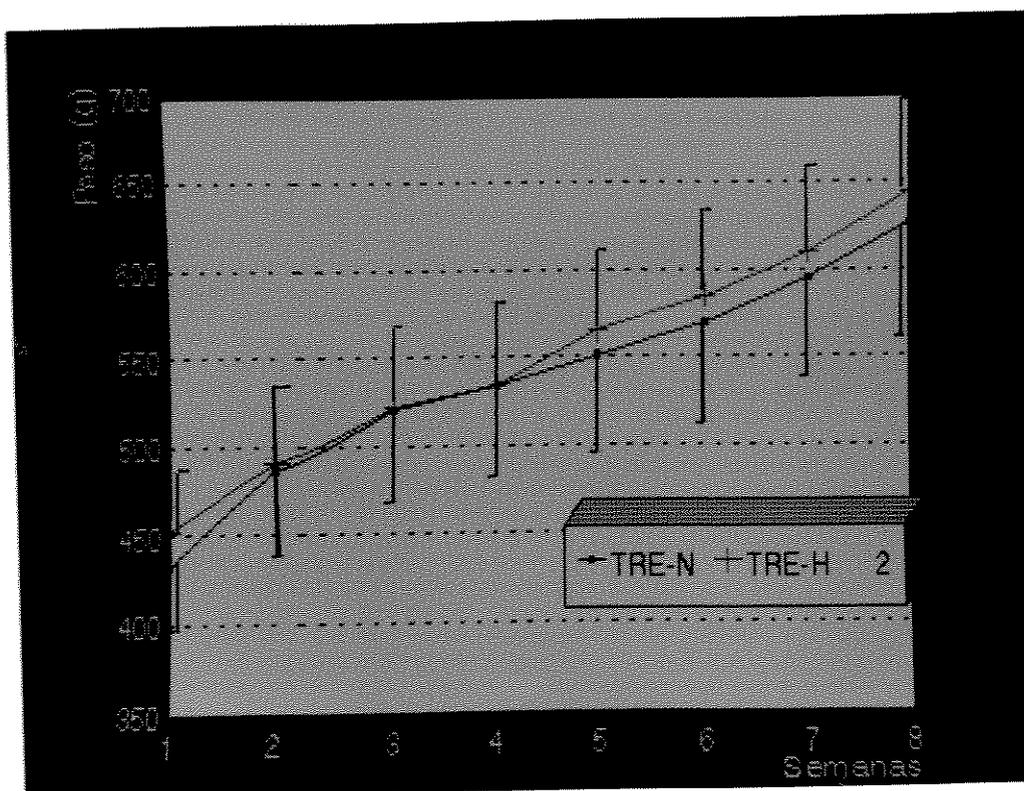


Fig. 4.2 Variação semanal da massa corporal de cobaias treinadas (TRE), com normo (N) * e hipervitaminose (H) **. *(R+A)= agrupamento dos subgrupos "repouso" e "agudo". As barras verticais representam o desvio padrão da média.
* n= 23; ** n=22

Tab. 4.3 Variação semanal do peso corpóreo (em gramas) de cobaias treinadas (TRE) e sedentárias (SED).

SEMANAS	(n=42)		(n=45)	
	SED-[R+A]-[N+H] * x	(dp)	TRE-[R+A]-[N+H]* x	(dp)
1	461,81	(41,32)	425,68	(34,98)
2	498,86	(43,73)	482,23	(46,01)
3	528,64	(47,00)	511,47	(52,56)
4	550,00	(53,07)	523,77	(51,59)
5	576,83	(54,54)	544,72	(54,41)
6	606,10	(58,64)	546,06	(52,54)
7	630,20	(60,53)	588,72	(53,29)
8	658,70	(65,35)	619,51	(58,89)

x = média; dp = desvio padrão; n = número de indivíduos; [R+A]-[N+H] = subgrupos "repouso" e "agudo" e com norma e hipervitaminose agrupados.

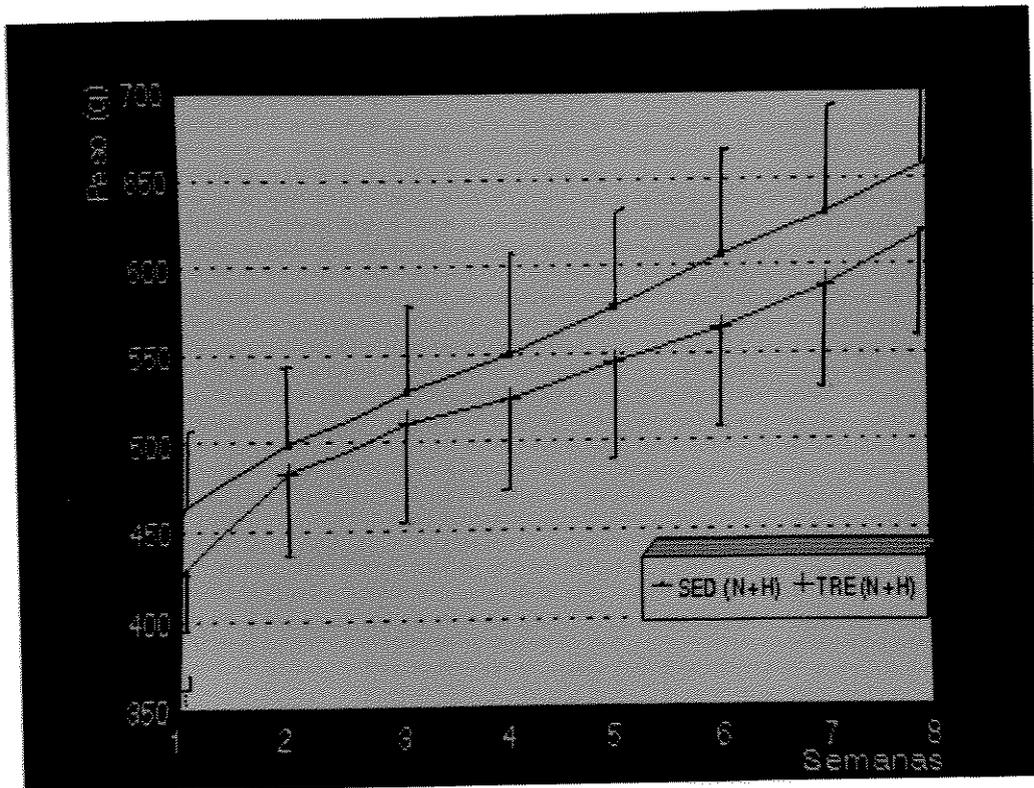


Fig. 4.3 Variação semanal da massa corporal (gramas) de cobaias sedentárias (SED)^{*} e trelnadas (TRE)^{**}, durante o período experimental. As barras verticais representam o desvio padrão da média; [R+A] - [N+H]^{*} = agrupamento dos subgrupos "repouso" e "agudo" e com normo e hipervitaminose. (n = 42 **n = 45)

* $t_{calc} < t_{crit}$; não rejeita H_0 , ou seja $b_1 = b_2$, ao nível de significância de 5%.

4.1.2 Músculo tríceps

A **tabela 4.4** e **figura 4.4** mostram os valores médios das medidas histológicas dos cortes transversais das fibras musculares, evidenciando um aumento significativo ($p < 0,05$) nas áreas das fibras referentes ao grupo de animais treinados quando comparados ao grupo dos animais sedentários, ambos na condição de normovitaminose (SED-N vs TRE-N).

A **figura 4.5** apresenta fotografias de cortes transversais da cabeça longa do tríceps, nas quais é possível observar as maiores dimensões das fibras musculares de uma cobaia TRE comparadas as de uma cobaia SED, ambas com normovitaminose e selecionadas ao acaso.

Tab. 4.4 Médias das áreas das secções transversais de fibras da cabeça longa do músculo tríceps de cobaias sedentárias (SED)* e treinadas (TRE)*. Dados expressos como média e desvio padrão.

GRUPOS	n	ÁREA (μm^2)	
		x	dp
SED	426	659,06	234,51
TRE	467 ^{*a}	1088,17	476,07

n = número de fibras; *x* = média; *dp* = desvio padrão
 * diferença significativa ($p \leq 0,05$) em relação a **a** = SED
 * animais em repouso, com normovitaminose.

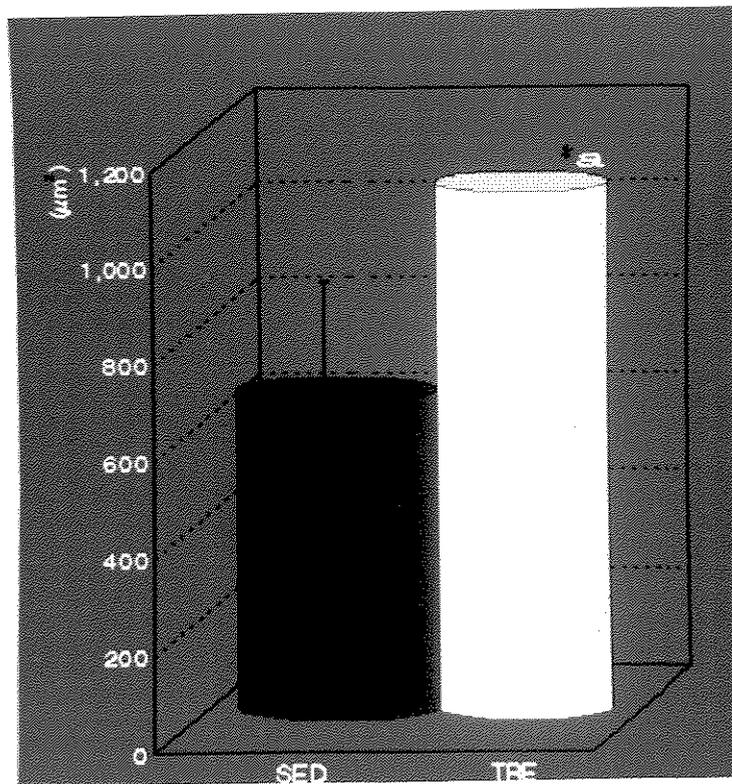


Fig. 4.4 Médias das áreas das secções transversais de fibras da cabeça longa do músculo tríceps de cobaias sedentárias (SED)* e treinadas (TRE)*. As barras verticais representam o desvio padrão das médias. *Diferença significativa em relação a \bullet = SED. *Animais em repouso, com normovitaminose.

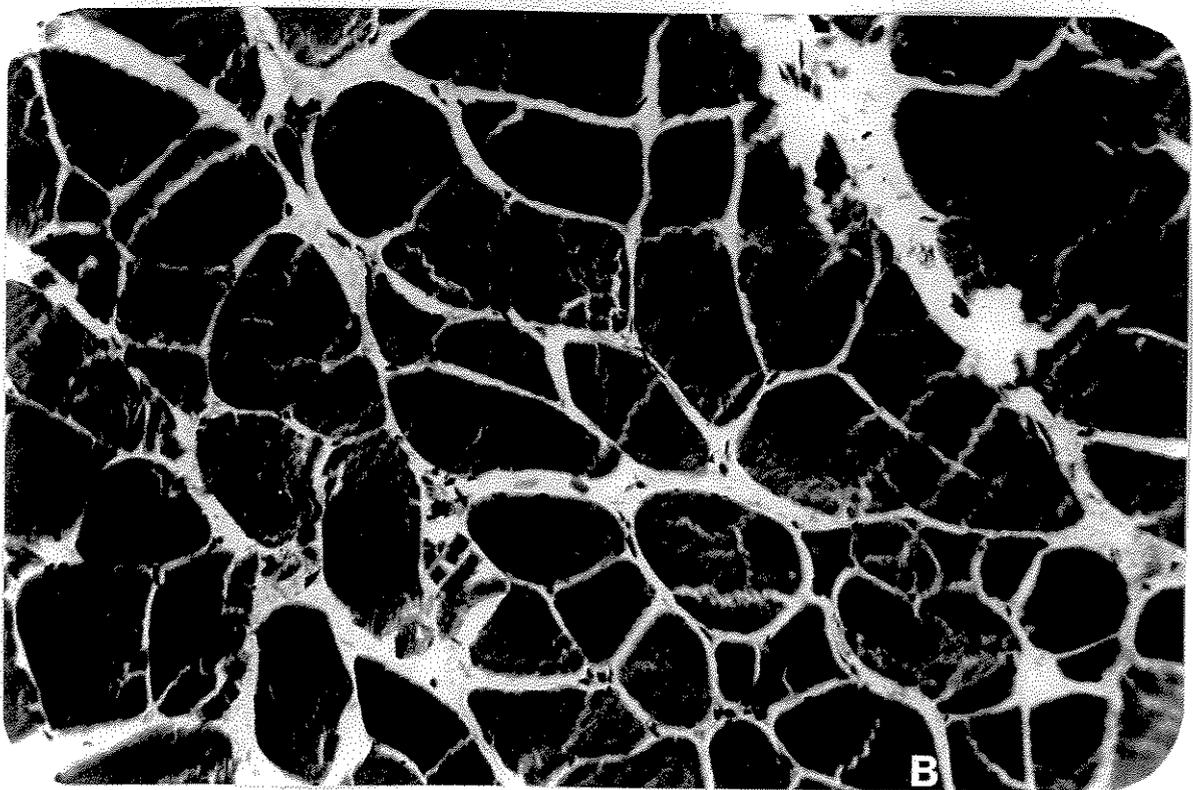
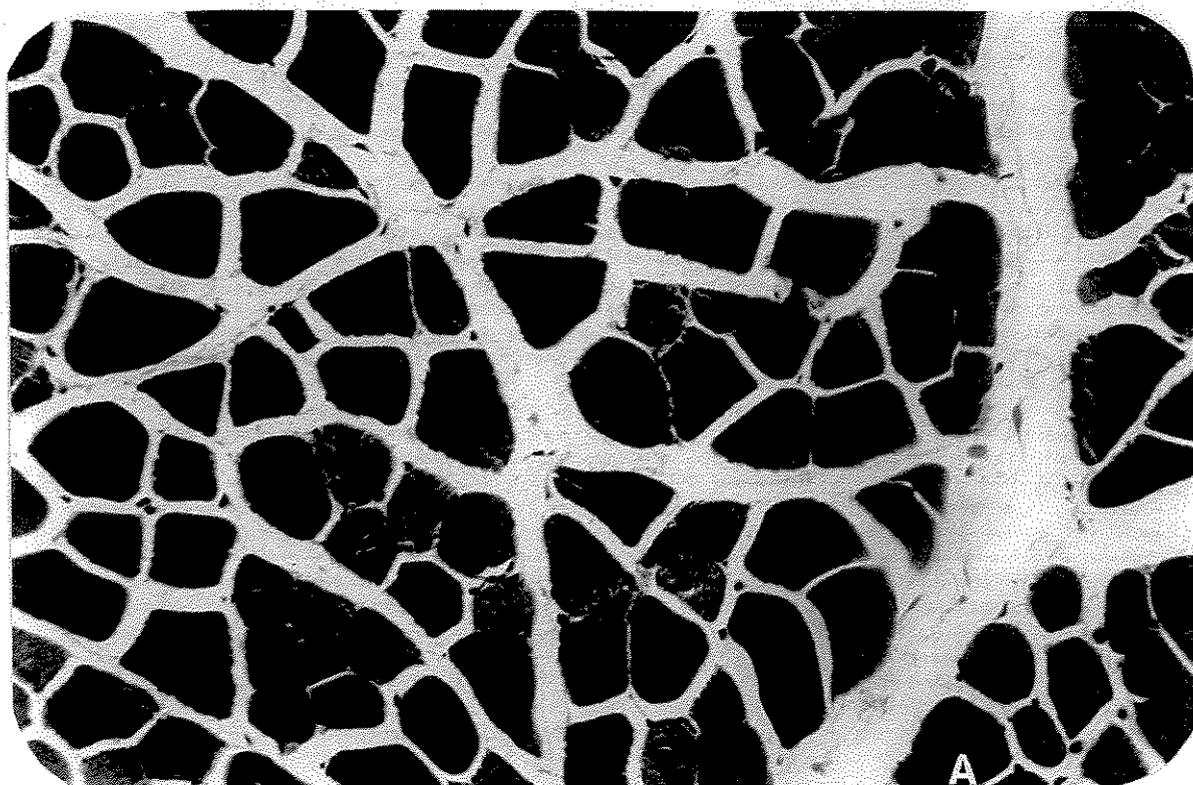


Fig. 4.5 Secção transversal de uma fibra da cabeça longa do músculo tríceps de A. cobala sedentária; B. cobaia trelnada. *Coloração pela técnica de H/E. Aumento 270x.*

4.3 CONTEÚDO DE ÁCIDO ASCÓRBICO NA GLÂNDULA ADRENAL

As médias das concentrações de ácido ascórbico obtidas das amostras de animais sedentários e treinados; com normo e hipervitaminose (SED-R-N, SED-R-H, TRE-R-N e TRE-R-H) estão representadas na **tabela 4.6** e na **figura 4.6**.

Observamos, tanto no grupo sedentário como no treinado uma concentração maior de ascorbato nas cobaias que receberam suplementação de vitamina C do que naquelas que foram mantidas na condição de normovitaminose. Tais diferenças tiveram significância estatística.

Tab. 4.5 Concentrações de ácido ascórbico ($\mu\text{g}/\text{mg}$) da glândula adrenal de cobaias sedentárias (SED) e treinadas (TRE), com normo (N) e hipervitaminose (H), todos os subgrupos na condição de repouso (R). Resultados expressos como média e desvio padrão.

GRUPOS	n	ÁCIDO ASCÓRBICO
SED-R-N	07	0,41 \pm 0,06
SED-R-H ^{*a}	11	0,94 \pm 0,15
TRE-R-N	14	0,57 \pm 0,14
TRE-R-H ^{*b}	14	0,79 \pm 0,10

n = número de indivíduos; * Diferença significativa ($p \leq 0,05$) em relação a: **a** = SED-R-N; **b** = SED-R-H.

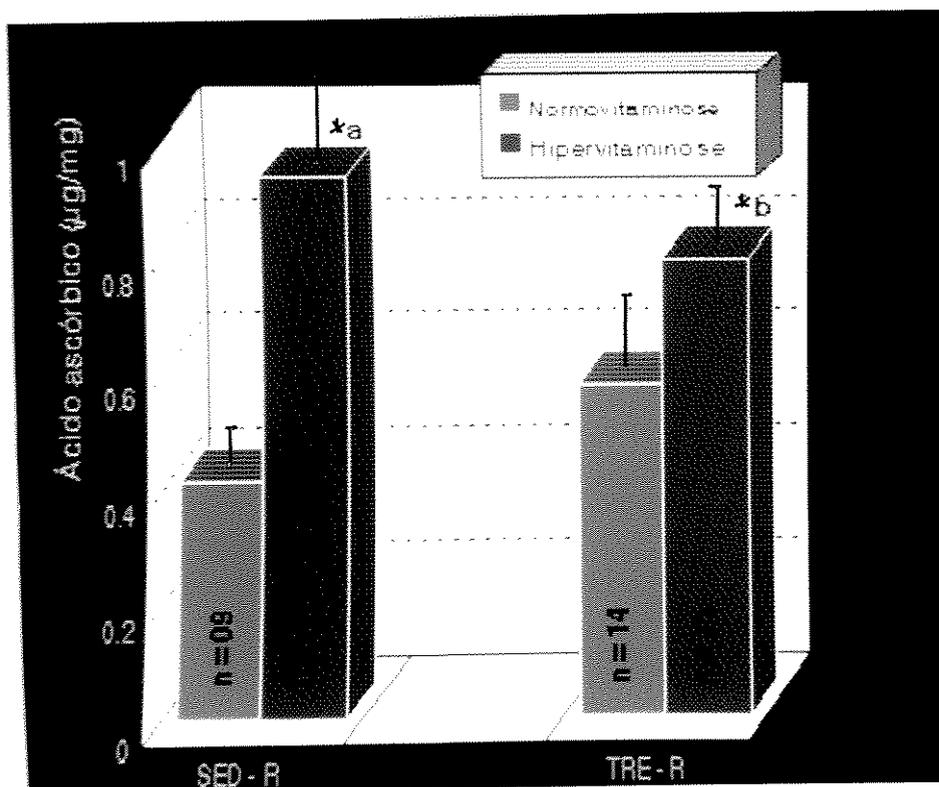


Fig. 4.6 Conteúdo de ácido ascórbico da glândula adrenal de cobaias sedentárias (SED) e treinadas, com normo (N) e hipervitaminose (H), a partir do repouso (R). As barras verticais representam o desvio padrão das médias. * Diferença significativa ($p \leq 0,05$), em relação a: a = SED-R-N, b = TRE-R-N.

4.3 CONTEÚDO DE GLICOGÊNIO MUSCULAR

As médias das concentrações de glicogênio obtidas a partir das amostras de tecido muscular esquelético de animais sedentários e treinados, sacrificados em repouso e após realização do exercício agudo, com normo e hipervitaminose (SED-R-N, SED-R-H, SED-A-N, SED-A-H, TRE-R-N, TRE-R-H, TRE-A-N, TRE-A-H) estão demonstradas na **tabela 4.6** e **figura 4.7**.

Observamos no grupo sedentário que a condição de exercício agudo levou à depleção dos estoques de glicogênio no músculo esquelético, tanto no subgrupo com normovitaminose quanto naquele com hipervitaminose (SED-R-N vs SED-A-N [↓]; SED-R-H vs SED-A-H [↓]).

A diminuição dos valores médios das concentrações de glicogênio muscular apresentada pelos animais treinados (com normo e com hipervitaminose), não tiveram significância estatística (TRE-R-N vs TRE-A-N; TRE-R-H vs TRE-A-H). Houve portanto diferença significativa entre os valores desse substrato no músculo, quando comparados os subgrupos treinados exercitados agudamente aos seus respectivos controles sedentários (SED-A-N vs TRE-A-N [↑]; SED-A-H vs TRE-A-H [↑]).

Nesse tecido constatamos valores médios inferiores de glicogênio, em todos os subgrupos na condição de hipervitaminose, embora essa diminuição em nenhum deles tenha sido significativa estatisticamente.

Tab. 4.6 Concentração de glicogênio muscular (mg/100mg) de cobaias sedentárias (SED) e treinadas (TRE), com normo (N) e hipervitaminose (H), sacrificadas em repouso (R) e após exercício agudo de natação (A). Resultados expressos como média e desvio padrão.

GRUPOS	n	GLICOGÊNIO MUSCULAR
SED-R-N	10	1.11 ± 0.20
SED-R-H	12	0.89 ± 0.34
SED-A-N ^{*a}	09	0.24 ± 0.11
SED-A-H ^{*b}	11	0.19 ± 0.05
TRE-R-N	13	1.47 ± 0.34
TRE-R-H	14	1.18 ± 0.38
TRE-A-N ^{*c}	08	1.14 ± 0.28
TRE-A-H ^{*d}	10	1.02 ± 0.25

n = número de indivíduos; * Diferença significativa ($p \leq 0,05$) em relação a: **a** = SED-R-N, **b** = SED-R-H, **c** = SED-A-N, **d** = SED-A-H.

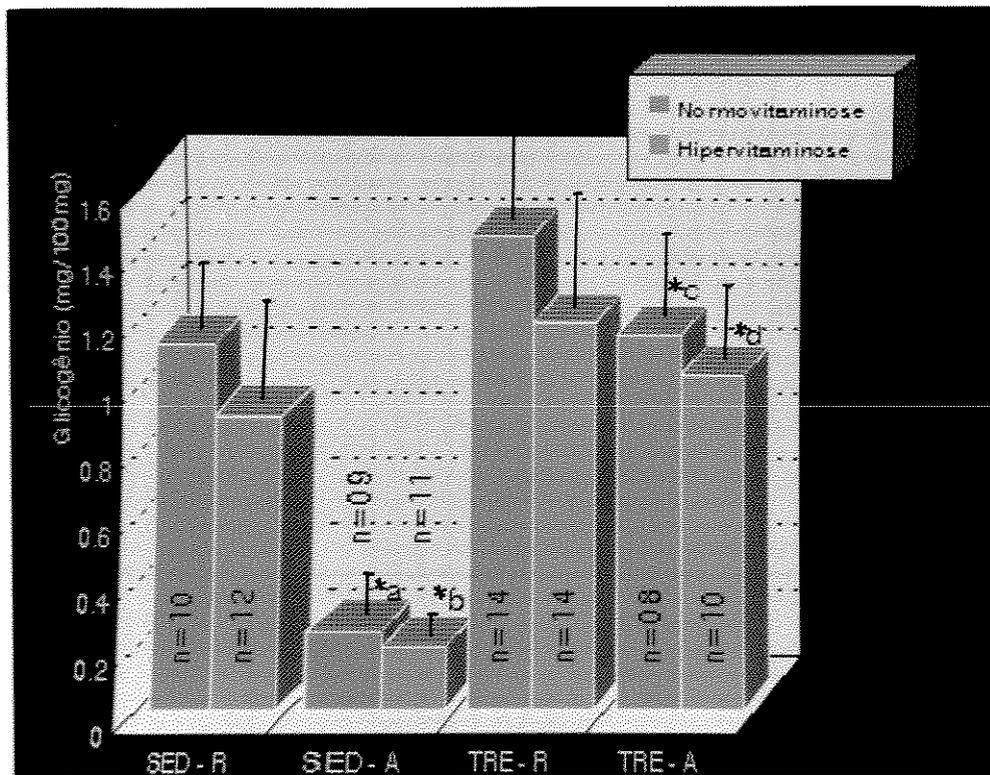


Fig. 4.7 Conteúdo de glicogênio muscular de cobalidas sedentárias (SED), treinadas (TRE), em repouso (R) e após exercício agudo de natação (A), nas condições de normo (N) e hipervitaminose (H). As barras verticais representam o desvio padrão das médias. *Diferença significativa ($p \leq 0,05$) em relação a: a = SED-R-N, b = SED-R-H, c = SED-A-N, d = SED-A-H.

4.4 CONTEÚDO DE GLICOGÊNIO HEPÁTICO

Os valores médios dos teores de glicogênio, obtidos a partir de amostras do tecido hepático de animais sedentários e treinados, sacrificados em repouso e após exercício agudo, com normo e hipervitaminose (SED-R-N, SED-R-H, SED-A-N, SED-A-H, TRE-R-N, TRE-R-H, TRE-A-N, TRE-A-H) estão descritos na **tabela 4.7 e figura 4.8**.

No grupo sedentário, os resultados obtidos das cobaias exercitadas agudamente indicaram diminuição significativa dos níveis de glicogênio hepático em relação àqueles obtidos das cobaias mantidas na condição de repouso, apenas no subgrupo com normovitaminose (SED-R-N vs SED-A-N [↓]). No subgrupo com hipervitaminose não foi observada tal diferença (SED-R-H vs SED-A-H). Não obstante, observamos nesse grupo que os animais na condição de hipervitaminose apresentaram, em repouso, concentrações significativamente menores desse substrato comparados às cobaias com normovitaminose (SED-R-N vs SED-R-H [↓]).

Nos animais treinados não foram constatadas alterações dos teores de glicogênio hepático em função da suplementação vitamínica, ou do exercício agudo (TRE-R-N vs TRE-A-N; TRE-R-H vs TRE-A-H). Não observamos nos animais treinados com normovitaminose, em repouso, alteração significativa do teor de glicogênio, em relação aos sedentários (SED-R-N vs TRE-R-N), muito embora tenha sido grande o desvio padrão encontrado para o grupo TRE-R-N . Dentre os animais treinados e sedentários, nas condições de repouso e hipervitaminose, entretanto, ocorreu uma maior concentração de glicogênio no grupo treinado (SED-R-H vs TRE-R-H [↑]).

Tab. 4.7 Concentração do glicogênio hepático (mg/100mg) de cobaias sedentárias (SED) e treinadas (TRE), com normo (N) e hipervitaminose (H), sacrificadas a partir do repouso (R) e após exercício agudo de natação (A). Resultados expressos como média e desvio padrão.

GRUPOS	n	GLICOGÊNIO HEPÁTICO
SED-R-N	10	6.57 ± 0.50
SED-R-H ^{**}	12	2.08 ± 0.81
SED-A-N ^{**}	09	3.34 ± 0.98
SED-A-H	10	2.26 ± 0.77
TRE-R-N	08	6.26 ± 2.72
TRE-R-H ^{*b}	09	5.65 ± 1.52
TRE-A-N	09	5.13 ± 1.77
TRE-A-H	10	5.17 ± 1.38

n = número de indivíduos; * Diferença significativa ($p \leq 0,05$) em relação a: **a)** SED-R-N, **b)** SED-R-H.

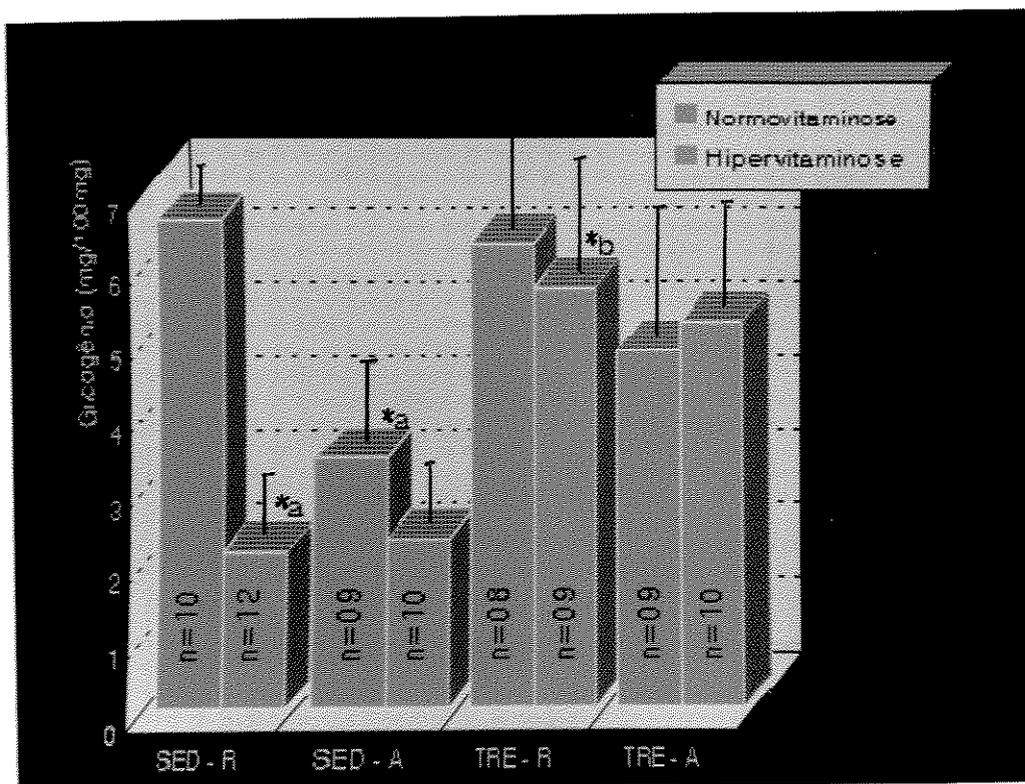


Fig. 4.8 Conteúdo de glicogênio hepático de cobaias sedentárias (SED) e trelnadas (TRE), com normo (N) e hipervitaminose (H), em repouso (R) e após o exercício agudo de natação (A). As barras verticais representam o desvio padrão das médias. * Diferença significativa ($p \leq 0,05$) em relação a: a = SED-R-N, b = SED-R-H.

4.5 CONTEÚDO DE LACTATO SANGUÍNEO

Os valores médios das concentrações de lactato sanguíneo obtidas de animais sedentários e treinados, sacrificados em repouso e após exercício agudo, com normo e hipervitaminose estão representadas na **tabela 4.8** e na **figura 4.9**.

Constatamos, nesse *design* experimental, níveis significativamente mais elevados de lactato sanguíneo, dentro do grupo sedentário, naqueles animais que foram submetidos ao exercício agudo de natação, tanto nos subgrupos com normovitaminose, quanto naqueles com hipervitaminose (SED-R-N vs SED-A-N [↑]; SED-R-H vs SED-A-H [↑]).

No grupo treinado, os níveis de lactato sanguíneo não exibiram diferenças significativas entre os animais sacrificados em repouso ou exercitados agudamente. Todavia, no grupo treinado, os valores observados para as cobaias exercitadas agudamente, foram significativamente mais elevados que aqueles constatados no grupo sedentário, nas mesmas condições (SED-A-N vs TRE-A-N [↑]; SED-A-H vs TRE-A-H [↑]).

Tab. 4.8 Concentração de lactato sanguíneo (mM) de cobaias sedentárias (S) e trelnadas (TRE), com normo (N) e hipervitaminose (H), sacrificadas a partir do repouso (R) e após exercício agudo de natação (A). Resultados expressos como média e desvio padrão.

GRUPOS	n	LACTATO
SED-R-N	10	4.01 ± 1.42
SED-R-H	11	2.08 ± 1.22
SED-A-N ^{*a}	09	11.92 ± 6.37
SED-A-H ^{*b,c}	10	7.27 ± 3.20
TRE-R-N	10	1.02 ± 0.48
TRE-R-H	10	0.90 ± 0.39
TRE-A-N ^{*c}	09	2.13 ± 0.73
TRE-A-H ^{*d}	10	1.86 ± 0.53

n = número de indivíduos; * Diferença significativa ($p \leq 0,05$), em relação a: **a** = SED-R-N, **b** = SED-R-H; **c** = SED-A-N, **d** = SED-A-H.

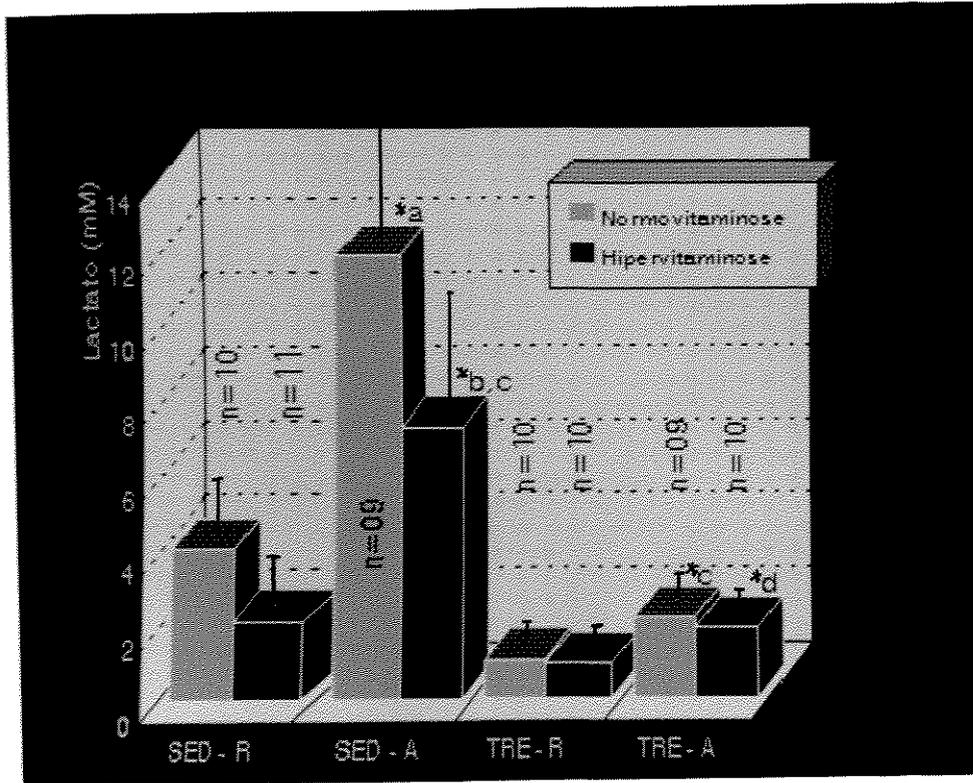


Fig. 4.9 Conteúdo de lactato sanguíneo de cobaias sedentárias (SED) e treinadas (TRE), com normo (N) e hipervitaminose (H), em repouso (R) e após o exercício agudo de natação (A). As barras verticais representam o desvio padrão da média. *Diferença significativa ($p \leq 0,05$), em relação a: **a** = SED-R-N, **b** = SED-R-H, **c** = SED-A-N, **d** = SED-A-H.

4.7 CONTEÚDO DE HISTAMINA MUSCULAR

Os valores médios das concentrações de histamina obtidas das amostras de músculo tríceps de animais sedentários e treinados, sacrificados em repouso e após realização de exercício agudo, com normo e hipervitaminose, estão representados na **tabela 4.9** e na **figura 4.10**.

No grupo sedentário foi observada uma elevação significativa nos níveis de histamina muscular das cobaias com normovitaminose exercitadas agudamente em comparação àquelas mantidas em repouso (SED-R-N vs SED-A-N [↑]). A elevação observada no subgrupo com hipervitaminose não teve significância estatística. Constatamos no subgrupo com hipervitaminose, exercitado agudamente uma elevação de histamina muscular pronunciadamente menor que no subgrupo exercitado na condição de normovitaminose (SED-A-N vs SED-A-H [↓]).

No grupo treinado, o incremento do teor histamínico no tecido muscular, na condição de exercício agudo não foi significativo estatisticamente, tanto na condição de normovitaminose, como na de hipervitaminose (TRE-R-N vs TRE-A-N; TRE-R-H vs TRE-A-H). O subgrupo com normovitaminose exercitado agudamente apresentou uma elevação significativamente menor do teor de histamina em relação ao seu respectivo controle sedentário (SED-A-N vs TRE-A-N [↓]).

Das quatro comparações feitas entre os animais com normo e hipervitaminose, constatamos em três, um deles com significância estatística, valores médios menores de histamina naqueles animais com hipervitaminose.

Tab. 4.9 Concentração de histamina ($\mu\text{g/g}$) do músculo tríceps de cobaias sedentárias (SED) e trelnadas (TRE), com normo (N) e hipervitaminose (H), sacrificadas em repouso (R) e após exercício agudo de natação (A). Resultados expressos como média e desvio padrão.

GRUPOS	n	HISTAMINA
SED-R-N	08	0.66 \pm 0.18
SED-R-H	08	0.56 \pm 0.09
SED-A-N ^{*a}	10	1.00 \pm 0.40
SED-A-H ^{*b}	08	0.75 \pm 0.21
TRE-R-N	08	0.53 \pm 0.16
TRE-R-H	09	0.54 \pm 0.18
TRE-A-N ^{*b}	08	0.76 \pm 0.16
TRE-A-H	09	0.66 \pm 0.21

n = número de indivíduos (cobaias), * Diferença significativa ($p \leq 0,05$) em relação a: **a** = SED-R-N; **b** = SED-A-N

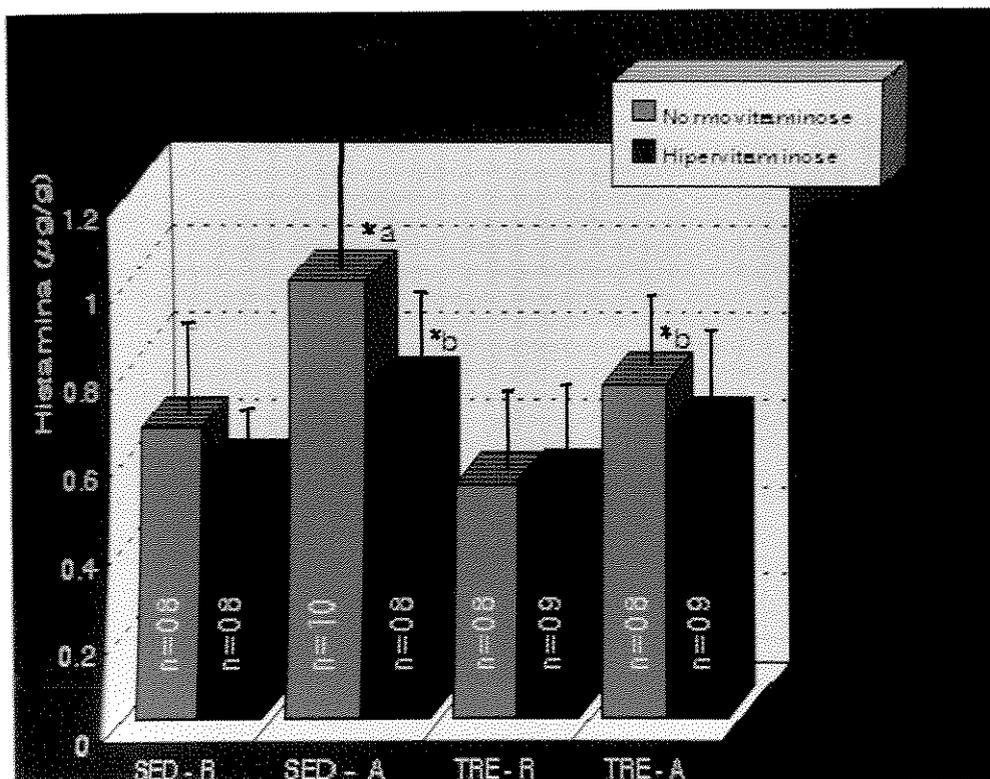


Fig. 4.10 Conteúdo histamínico do músculo tríceps de cobalás sedentárias (SED) e treinadas (TRE), com normo (N) e hipervitaminose (H), a partir do repouso (R) e após o exercício agudo de natação. As barras verticais representam o desvio padrão das médias. *Diferença significativa em relação a: **a** = SED-R-N; **b** = SED-A-N

4.7 CONTEÚDO DE HISTAMINA CARDÍACA

Os valores médios dos teores de histamina no músculo cardíaco de animais sedentários e treinados, sacrificados em repouso e após exercício agudo, com normo e hipervitaminose estão descritos na tabela 4.10 e na figura 4.11.

No grupo sedentário observamos que os valores médios das concentrações de histamina cardíaca foram menores nos animais em repouso, tanto na condição de normo como na de hipervitaminose, quando comparados aos respectivos subgrupos de animais exercitados agudamente (SED-R-N vs SED-A-N [↑]; SED-R-H vs SED-A-H [↑]). Notou-se também que na condição de hipervitaminose houve uma concentração menor de histamina cardíaca, em ambas as situações (SED-R-N vs SED-R-H [↓]; SED-A-N vs SED-A-H [↓]).

Os animais submetidos ao protocolo de treinamento físico não apresentaram diferença significativa nos níveis de histamina em relação aos seus respectivos controles sedentários, exceto, o subgrupo treinado exercitado agudamente, na condição de normovitaminose, que apresentou menor concentração de histamina que seu respectivo controle sedentário (SED-A-N vs TRE-A-N [↓]). Ao contrário do subgrupo com normovitaminose nos quais a elevação do teor histamínico observada na condição de exercício agudo não teve significado estatístico (TRE-R-N vs TRE-A-N), o subgrupo com hipervitaminose apresentou um aumento estatisticamente significativo (TRE-R-H vs TRE-A-H [↑]).

Também em relação a essa variável ressaltamos a ocorrência de valores médios menores de suas concentrações em todos os subgrupos com hipervitaminose quando comparados aos seus respectivos controles com normovitaminose, muito embora a significância estatística não tenha estado presente na comparação entre alguns subgrupos treinados.

Tab. 4.10 Concentração de histamina ($\mu\text{g/g}$) do músculo cardíaco, de cobaias sedentárias (SED) e trelnadas (TRE), com normo (N) e hipervitaminose (H), sacrificadas em repouso (R) e após de exercício agudo de natação (A). Resultados expressos como média e desvio padrão.

GRUPOS	n	HISTAMINA
SED-R-N	08	4.71 \pm 0.60
SED-R-H ^{*a}	09	3.94 \pm 0.83
SED-A-N ^{*a}	08	5.92 \pm 0.73
SED-A-H ^{*b,c}	08	5.05 \pm 0.78
TRE-R-N ^{*c}	11	3.73 \pm 0.80
TRE-R-H	08	3.23 \pm 0.65
TRE-A-N	09	4.73 \pm 0.87
TRE-A-H ^{*d}	09	4.15 \pm 0.97

n = número de indivíduos (cobaias). *Diferença significativa ($p \leq 0,05$) em relação a: **a** = SED-R-N; **b** = SED-R-H; **c** = SED-A-N; **d** = TRE-R-H

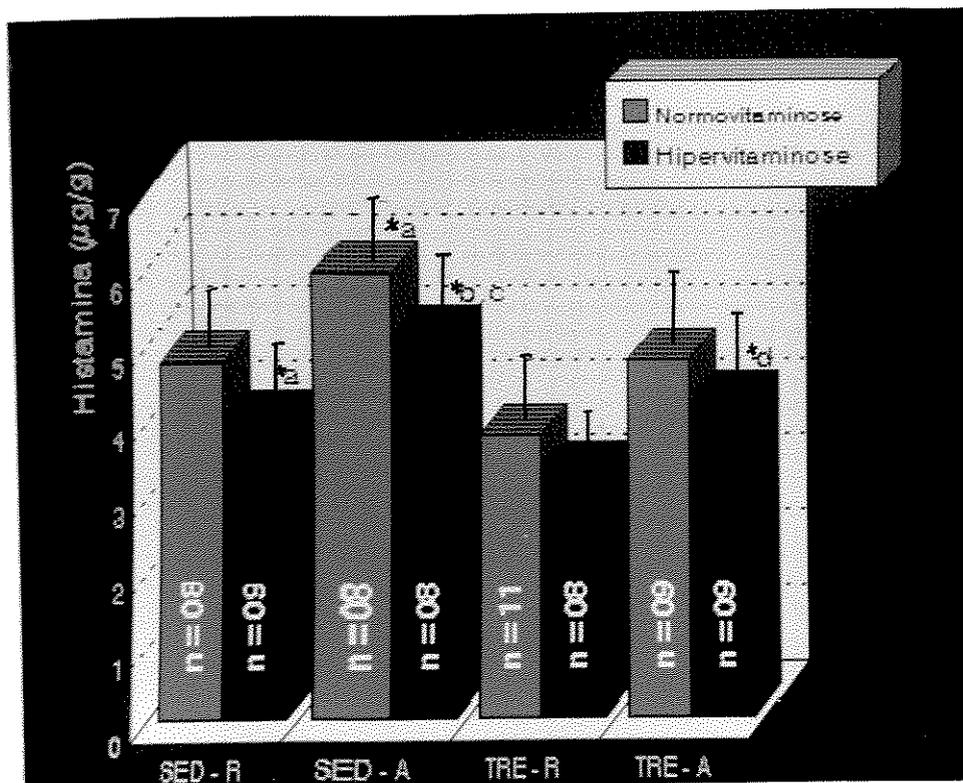


Fig. 4.11 Conteúdo histamínico do músculo cardíaco de cobaias sedentárias (SED) e trelnadas (TRE), com normo (N) e hipervitaminose (H), em repouso (R) e após exercício agudo de natação (A). As barras verticais representam o desvio padrão das médias. *Diferença significativa em relação a: a) SED-R-N; b) SED-R-H; c) SED-A-N; d) TRE-R-H.

5 - DISCUSSÃO

5. DISCUSSÃO

5.1 MÉTODO DE TREINAMENTO

A literatura tem relatado muitas modificações fisiológicas adaptativas, decorrentes da aplicação do treinamento físico. Contudo, é difícil generalizar o grau em que ocorre esta adaptação, uma vez que isto depende, dentre outros fatores, da intensidade, frequência, duração e modo de treinamento aplicados (BROOKS et al, 1987).

A natação tem demonstrado ser um método eficiente no que se refere à obtenção de adaptações fisiológicas ao exercício (SAMPAIO BARROS, 1993, GOBATTO, 1994, AZEVEDO, 1994) além de provocar menor estresse

emocional agudo no animal do que exercícios com esteira rolante (OSTMAN-SMITH, 1979, KOKUBUN, 1990). Sendo assim, optamos por este método de treinamento físico, esperando poder avaliar algumas das alterações metabólicas, decorrentes e/ou subjacentes a tais adaptações fisiológicas.

Outra peculiaridade muito importante do exercício físico, relaciona-se a resposta individual de cada organismo a ele submetido (BROOKS et al, 1987). São esperadas e observadas respostas características, de acordo com a espécie animal utilizada, nos diversos protocolos de treinamento físico. Nas cobaias, o processo de adaptação ao exercício se dá muito lentamente, se comparado ao do rato.

De acordo com AZEVEDO (1994), nos animais expostos à natação, as respostas fisiológicas e comportamentais estão associadas a vários fatores “estressores”, como temperatura da água e medo do afogamento. Em cobaias, é nítido o comportamento aflitivo exibido até mesmo quando são manipuladas para limpeza das gaiolas, sendo, portanto, importante o estabelecimento de alguns cuidados com a finalidade de minimizar o estresse induzido pela atividade de natação.

Com essa preocupação, estabelecemos, em nosso experimento, uma fase inicial somente de adaptação do animal ao meio aquático, com nível baixo de água, seguido de um período lento, de incrementos muito gradativos na duração das sessões de natação, até ser atingido o tempo pré-estabelecido de 30 minutos.

A duração das sessões de natação de 30 minutos foi determinada por experiência piloto, onde verificou-se que ao atingir esse tempo, muitas cobaias apresentavam sinais de fadiga. O acréscimo de qualquer tipo de resistência corporal adicional, como adaptação de peso ao dorso do animal, tão utilizado nos protocolos de treinamento com natação em ratos (SAMPAIO BARROS, 1993, GOBATTO, 1993, AZEVEDO, 1994), tornou-se, dessa maneira, inviável. Dentre os animais

sedentários submetidos ao exercício agudo antes do sacrifício, alguns não conseguiam completar os trinta minutos de natação, sendo retirados da água antes desse período, completamente exauridos.

Todos esses fatores foram, portanto, delineados no protocolo, que se caracterizou por um período de três semanas de adaptação, seguido do período de treinamento de quatro semanas e somente um dia de descanso a cada 7 dias, com a finalidade de evitar ao máximo o descondicionamento do animal.

5.2 ANÁLISES BIOMÉTRICAS

5.2.1 Variação semanal de peso corpóreo

Na análise da variação semanal de peso corpóreo durante o período experimental, notamos que as condições de normo e hipervitaminose não interferiram no ganho de peso, uma vez que os animais que receberam a suplementação de vitamina C exibiram uma curva muito semelhante à daqueles com normovitaminose, tanto no grupo sedentário como no treinado.

Estes resultados estão de acordo com a literatura, onde verifica-se que VEEN-BAIGENT, TEN CATE, BRIGHT-SEE et al (1975) analisando o efeito de diferentes níveis de suplementação de ácido ascórbico (0 a 50 mg/100 g de peso corpóreo) no peso corporal de cobaias alimentadas com dieta "escorbútica", observaram uma diminuição de ganho de peso nos animais que receberam doses entre 0 e 0,05mg/100g, enquanto nos grupos que receberam 0,15 - 50 mg/100g, o ganho de peso foi normal. Esses autores concluíram, dessa forma, que a deficiência de ácido ascórbico pode resultar em comprometimento do

desenvolvimento corporal, traduzido pela diminuição do ganho de peso, embora não se verifique o contrário, nas condições de hipervitaminose.

Assim como as curvas da variação do peso corpóreo foram praticamente idênticas nos animais com normo e hipervitaminose, tais subgrupos foram aglutinados para a comparação da variação semanal de ganho de peso entre animais sedentários vs treinados ([SED-N + SED-H] vs [TRE-N + TRE-H]).

MAYER, MARSHALL, VITALE et al (1954) observaram que ratos adultos sedentários quando exercitados por períodos paulatinamente crescentes em uma esteira, apresentavam uma redução lenta e significativa da ingesta alimentar, acompanhada de redução do peso corpóreo. Muitos outros trabalhos na literatura relatam, como um sinal clássico de resposta ao condicionamento físico, a diminuição do ganho de peso ao longo do período de treinamento, embora não seja um achado universalmente comum.

SAMPAIO BARROS (1993) trabalhando com treinamento físico, através da natação em ratos, encontrou diferença significativa no ganho de peso entre os grupos sedentário e treinado, a partir da terceira semana do período experimental. o que não foi observado por AZEVEDO (1994), que trabalhou também com ratos e com protocolo de treinamento semelhante. Entretanto, nossos resultados evidenciaram que a partir da terceira semana houve um discreto achatamento da curva de ganho de peso dos animais treinados, emboa esta alteração não tenha sido estatisticamente significativa.

Para a determinação de um protocolo de treinamento físico, é imprescindível ter muito bem estabelecidos os objetivos desse programa, para que possam ser traçadas as atividades (incluam-se aqui: frequência, intensidade e duração) que melhor se ajustem às suas finalidades. O respeito à peculiaridade ou ainda, variabilidade individual de resposta ao exercício é crucial para o sucesso de um protocolo. Num trabalho experimental, utilizando-se animais como sujeitos da

pesquisa, é preciso conhecer como cada espécie animal responde ao exercício, qual o limiar mínimo de atividade para obtermos efeitos fisiológicos do treinamento, e também, qual o limiar máximo, ou seja quanto de atividade o animal suporta sem entrar na chamada fase de exaustão. Nesse sentido o protocolo de treinamento físico acaba sendo moldado pelas características peculiares de cada espécie animal estudada.

No estudo feito por SAMPAIO BARROS (1993), os animais utilizados foram ratos, caracterizados por sua grande resistência física, suportando sessões de natação prolongadas de 60 minutos ou mais, além do acréscimo de resistência corporal (com peso adaptado à região dorsal do animal), que alguns trabalhos têm demonstrado ser imprescindível, no rato, para produzir efeitos do condicionamento físico (LUCIANO, 1991). Já as cobaias, espécie animal utilizada no presente trabalho, por sua vez, caracterizam-se pela pequena resistência a situações de estresse como pode ser interpretado o exercício. Necessitam de um maior período de adaptação, bem como sessões mais breves. É possível portanto, que um dos fatores que possam ter influenciado na variação de ganho de peso do animal tenha sido a própria característica do protocolo de treinamento físico, que embora intenso o suficiente para induzir as adaptações bioquímicas e morfológicas microestruturais, não interferiu no ganho ponderal dessa espécie.

O outro fator associado a diminuição do ganho de peso que é a ingesta alimentar que não foi controlada nesse trabalho. É possível que no desenrolar do período experimental, os animais treinados não tenham sofrido redução da ingesta alimentar, ou até tenham-no aumentado, pelo maior consumo calórico estimulado pelo próprio exercício, não demonstrando assim, diminuição do ganho de peso.

5.2.2 Diâmetro da secção transversal da fibra muscular esquelética

HERMANSEN, WACHTLOVA (1971) relataram a ocorrência de aumento de aproximadamente 30% no diâmetro das fibras musculares de atletas altamente treinados em relação a atletas não treinados. Outros trabalhos têm demonstrado que tanto em humanos quanto em animais de laboratório, o músculo submetido regularmente a uma sobrecarga de determinada intensidade, sofre um processo conhecido como hipertrofia - aumento do tamanho celular (GOLLNICK, ARMSTRONG, SAUBERT et al, 1972, GOLLNICK, ARMSTRONG, SALTIN et al, 1973, SOARES, 1992, SAMPAIO BARROS, 1993, AZEVEDO, 1994). Esse processo parece ser decorrente do espessamento das miofibrilas, proliferação das células do tecido conjuntivo e um aumento do número de células satélites que circundam cada fibra (Van LINGE, 1962).

Os músculos tríceps das cobaias treinadas, muito utilizados por esse animal durante a natação, uma vez que seus movimentos na água se dão predominantemente pelo uso das patas dianteiras, apresentaram um aumento na área da secção transversal das fibras em torno de 65%. A realização dessa medida teve a finalidade obter maiores indícios da eficácia do programa de treinamento instituído nesse experimento. Esses resultados permitem-nos deduzir que o mesmo foi eficiente na produção de adaptações fisiológicas.

5.3 ÁCIDO ASCÓRBICO NA GLÂNDULA ADRENAL

As cobaias, assim como o homem não têm capacidade de sintetizar ácido ascórbico (HORNIG, 1975), tornando-se, portanto, um modelo experimental interessante para o estudo dos efeitos da suplementação desta

vitamina. KEITH et al (1974) relataram um rápido aumento nos níveis tissulares de ácido ascórbico, em resposta a administração de doses orais graduais de ascorbato (2 - 100mg/Kg de peso corporal), em cobaias do sexo masculino. Assim, como controle da efetividade da suplementação vitamínica realizada nesse experimento, procedemos à dosagem desta substância na glândula adrenal, que segundo (HORNIG, 1975), são nesta glândula e na hipófise os locais onde são observadas as maiores incorporações de ascorbato.

Como a idade parece determinar diferenças nas concentrações de ácido ascórbico nas adrenais, havendo uma tendência à diminuição nas cobaias mais velhas (HORNIG, 1975), procuramos utilizar cobaias com cinco meses de idade, na ocasião do sacrifício, caracterizadas como animais jovens.

Dessa forma, pudemos concluir que a suplementação vitamínica foi efetiva em ambos os grupos: uma vez que a concentração de ascorbato na glândula adrenal foi maior nos subgrupos com suplementação vitamínica. Por outro lado a experimentação leva-nos a sugerir que o treinamento físico não influencia na incorporação de ascorbato pelas adrenais, uma vez que os resultados das dosagens auferidas não diferiram significativamente entre os subgrupos treinados e seus respectivos controles sedentários.

5.4 SUBSTRATOS ENERGÉTICOS

Glicogênio muscular

RENNIE et al (1976) observaram que a atividade física intensa pode provocar uma redução tanto parcial quanto total dos níveis de glicogênio muscular. Em concordância com esses autores, nossos resultados evidenciaram uma depleção em torno de 80% na concentração de glicogênio muscular tanto nos

subgrupos com normovitaminose quanto naqueles com hipervitaminose, o que associado à depleção de glicogênio hepático e elevação do lactato sanguíneo também observados, sugerem que o exercício agudo de natação teve intensidade suficiente para determinar modificações substanciais no metabolismo energético.

Por outro lado, TAYLOR et al (1972) relataram que o treinamento determina elevações no teor de glicogênio muscular, incremento este creditado ao aumento da atividade da enzima glicogênio sintetase, responsável pela síntese de glicogênio (TAYLOR et al, 1972).

Embora se tenha obtido nesse trabalho, valores médios de glicogênio muscular mais elevados em ambos subgrupos (com normo e hipervitaminose) treinados, quando comparados aos seus respectivos controles sedentários (SED-R-N vs TRE-R-N; SED-R-H vs TRE-R-H), essa diferença não foi significativa estatisticamente. Entretanto, o comportamento da depleção de glicogênio nos animais sedentários e treinados exercitados agudamente demonstra, indubitavelmente, a eficiência do protocolo de treinamento. Assim, a depleção de glicogênio muscular significativamente menor, observada em cobaias treinadas pode ser interpretada como parte da “economia de funções”, ou seja, das adaptações fisiológicas promovidas pelo condicionamento físico.

DUAN et al (1994) colocam que a epinefrina em concentrações elevadas no plasma teria um efeito indireto sobre F-2,6-P₂ (ativador alostérico da fosfofrutoquinase-1). A epinefrina estimulando a glicogenólise aumentaria a disponibilidade da hexose fosfato, contribuindo para o aumento da F-2,6-P₂. Como observado por estes autores, indivíduos treinados apresentam menor nível de epinefrina circulante, o que poderia contribuir para a diminuição da F-2,6-P₂, com redução da glicólise intramuscular, fato que poderia ser, pelo menos em parte, responsável pela redução dos níveis de lactato sanguíneo observados em indivíduos treinados, durante o exercício físico.

Chamamos atenção para o fato de que embora sem significância estatística, os valores médios de glicogênio nesse tecido foram sempre menores nos subgrupos com hipervitaminose do que naqueles com normovitaminose.

A literatura tem descrito muitas implicações funcionais do ascorbato, a maioria delas entretanto feitas a partir das conseqüências do déficit dessa vitamina no organismo (HORNIG et al, 1988). Os efeitos de sua suplementação (definida aqui, como a administração de doses adicionais de ácido ascórbico ao indivíduo com um *status* basal normal dessa vitamina no organismo), permanecem obscuros.

Alguns autores proclamam efeitos benéficos advindos da suplementação vitamínica, muito embora até o momento não haja uma posição consensual no meio de pesquisa sobre o assunto. Na fisiologia do exercício, então, essa questão levanta polêmicas.

A maioria esmagadora dos trabalhos publicados desde aproximadamente a década de 30 até os dias de hoje relatam efeitos benéficos (RUGG GUN, 1938, GIROUD et al 1939, HOWALD et al, 1975, MEYER, de BRUIN, BROWN, 1975), ou nenhum efeito sobre a *performance* física, traduzida por parâmetros ventilatórios, cardiovasculares, níveis de lactato sanguíneo, entre outros (GEY et al, 1970, BENDER, NASH, 1975, KEREN, EPSTEIN, 1980). Porém, não encontramos nenhum relato quanto aos efeitos da suplementação vitamínica nos níveis tissulares hepático ou muscular de glicogênio.

Glicogênio hepático

Em relação a esse substrato pudemos constatar que no grupo sedentário, tanto a condição de hipervitaminose quanto o exercício agudo determinaram depleção do glicogênio hepático.

Classicamente, é esperada a ocorrência de depleção de glicogênio hepático em resposta a um estresse como o exercício agudo de natação, com finalidade de manter a glicemia constante e garantir a oferta adequada de substrato energético na forma de glicose ao músculo em exercício. Dessa maneira, nossos resultados corroboram com a literatura, quando analisamos o comportamento do grupo sedentário em repouso sem suplementação vitamínica, exercitado agudamente.

Um achado surpreendente, entretanto, foi a redução significativa do glicogênio no grupo sedentário, quando presente a condição de hipervitaminose.

Ainda que seja importante a adoção de determinada cautela na análise dos teores de glicogênio hepático, por ser o fígado um órgão crítico na homeostase do organismo, com uma elevada taxa metabólica, sensível a estímulos externos, podendo responder aos agentes causadores de estresse com depleção dos níveis de glicogênio; ainda que o fato de não estarem os animais na condição de jejum na ocasião do sacrifício (conduta adotada para evitar outra fonte adicional de estresse, além do exercício agudo, o que poderia influenciar outras variáveis biológicas analisadas nesse ensaio), podendo este fato determinar variações individuais nos teores desse substrato no fígado, acreditamos que o achado de depleção significativa de glicogênio hepático na condição de hipervitaminose nos animais sedentários em repouso, deva voltar nossa atenção para os possíveis efeitos do ascorbato sobre o metabolismo glicídico.

Fato interessante também, foi o de que, nos treinados, a diferença embora ainda presente, não teve a mesma magnitude observada nos animais sedentários, não merecendo significância estatística. Desses achados, poderíamos sugerir que o treinamento físico tenha, prevenido a depleção de glicogênio hepático em resposta ao exercício agudo, bem como minimizado os efeitos do ascorbato sobre os estoques desse substrato.

Lactato sangüíneo

O aumento dos níveis de lactato sangüíneo é outra observação comum, na resposta do organismo ao exercício físico agudo, imputado por alguns como decorrente do aumento da velocidade glicolítica, que não é acompanhada de utilização de piruvato pela mitocôndria, resultando na produção de lactato por ação da lei das massas (HOLLOSZY, BOOTH, 1976), ou ainda resultante do aumento de sua produção que não é acompanhada de aumento da remoção (WASSERMAN, BEAVER, WHIPP, 1986).

A elevação do lactato tem sido listada dentre as causas que acabam por determinar a fadiga muscular no decorrer do exercício (MUCKE, JOLLNER, 1986, PLISK, 1991).

A redução dos níveis de ácido láctico, por conseguinte, poderia ser benéfica para o desempenho do indivíduo no exercício. O treinamento físico, como demonstrado classicamente na literatura, determina uma menor elevação de seus níveis para uma mesma carga e intensidade de atividade (MAASEN, BUSSE, 1989). Alguns mecanismos têm sido sugeridos para justificar essa adaptação.

Tem sido observado que ratos treinados têm maior capacidade de remoção do lactato infundido, dando suporte à idéia de que os menores níveis de lactato após o treinamento são devidos, pelo menos em parte, ao aumento de seu *clearance* sangüíneo (DONOVAN, PAGLIASSOTTI, 1990). O sítio onde ocorre esse aumento *clearance* (fígado, músculo, rim), porém, não tem sido claramente definido.

SUMIDA, URDIALES, DONOVAN (1993), trabalhando com fígado perfundido isolado de ratos treinados, observou uma capacidade aumentada em torno de 25% para síntese de glicose a partir do lactato (utilizando meios de

perfusão com concentrações de lactato maiores que 2mM, sem acréscimo de hormônios).

A otimização da capacidade do músculo em oxidar o piruvato também tem sido considerada como um mecanismo envolvido na redução do lactato sanguíneo, induzida pelo treinamento físico (HOLLOSZY, COYLE, 1984).

Em nosso experimento observamos que os animais treinados apresentaram uma elevação significativamente menor dos níveis de lactato sanguíneo que os sedentários exercitados agudamente, com acordo com os resultados descritos na literatura. Destacamos, entretanto, como já descrito anteriormente, que têm sido encontrados níveis de lactato sérico elevados mesmo em indivíduos treinados, na condição de exercício agudo, e que têm sido justificados por alguns autores como sendo decorrentes da capacidade aumentada de transporte do lactato da célula para o meio intravascular (OYONO, ENGUELE et al, 1990, GOBATTO, 1993).

Assim como observado nos demais substratos energéticos discutidos anteriormente, também em relação ao lactato, constatamos menores níveis desse substrato em todos os subgrupos com hipervitaminose, quando comparados aos subgrupos que não receberam complementação vitamínica.

A relação do ascorbato com lactato, ao contrário do glicogênio muscular e hepático, tem sido feita na literatura desde os trabalhos desenvolvidos por GIROUD, et al (1938), Van HUSS (1966), onde foi relatado nos indivíduos submetidos à suplementação de vitamina C, melhor desempenho físico, incluindo-se uma recuperação mais rápida após o exercício, pela evidência de níveis sanguíneos diminuídos de lactato, muito embora esses achados não tenham sido unânimes em todos os trabalhos correlatos desenvolvidos a partir de então.

Nossos resultados, embora sem significância estatística, mas com uma repetição presente em todos os subgrupos, poderiam favorecer os trabalhos que

demonstraram ou sugeriram ocorrer diminuição dos níveis de ácido láctico com a suplementação vitamínica.

Entretanto, nossas observações concomitantes de que haveria uma "tendência" à diminuição também dos demais substratos energéticos como o glicogênio hepático e muscular, nessa condição, colocam-nos cuidadosos na interpretação desses resultados.

De acordo com a hipótese do "paradoxo da glicose" o glicogênio hepático seria formado predominantemente através da gliconeogênese a partir de substratos outros que não a glicose, mas como o lactato (BROOKS, 1986). É possível que a redução dos níveis de lactato, implicada pela vitamina C, leve ao comprometimento dos estoques hepáticos de glicogênio, onde houve uma redução significativa nos animais sedentários em repouso com hipervitaminose.

Por outro lado, o glicogênio muscular não obedece primariamente à hipótese do "paradoxo da glicose" que não poderia ser utilizada nesse caso, na justificativa para a redução de seus níveis, em presença de vitamina C.

O ascorbato é conhecido por suas propriedades oxi-redutoras, doando com facilidade íons H^+ . É possível que essa função possa interferir de alguma forma, em alguma(s) da(s) etapa(s) responsáveis pela síntese (modulando-a negativamente) ou pelo catabolismo (estimulando-o) de glicogênio. Sabe-se, por exemplo, que o déficit nutricional proteico, pode levar à diminuição da enzima glicose-6-fosfatase, o que impedindo a liberação de glicose para a circulação sistêmica, determina níveis elevados de glicogênio hepático (FLETCHER, 1966). Se fizermos uma analogia ao déficit proteico, é possível que a suplementação de vitamina C, que pode ser tida como uma modificação nutricional (obviamente de características essencialmente diferentes das do déficit proteico), que implica no aumento de sua biodisponibilidade e provavelmente na regulação de uma série de reações de oxi-redução, possa levar a implicações na funcionalidade de etapas

enzimáticas críticas do metabolismo energético, o que justificaria as alterações observadas tanto no lactato sanguíneo como no glicogênio hepático e muscular.

Considerando-se que é possível que os conflitos observados na comparação dos resultados de trabalhos anteriores, bem como a falta de significância estatística nas diferenças encontradas em nosso experimento, sejam decorrentes do uso de diferentes doses e diferentes esquemas de suplementação vitamínica, poderia ser interessante o desenvolvimento de protocolos que envolvessem na mesma espécie animal, diferentes doses de suplementação, observando seus efeitos sobre o metabolismo energético. Se encontradas modificações significativas nessas variáveis, procurar delinear-las, determinando qual a dosagem crítica para que isso ocorra. Trabalhos dessa natureza podem ser fundamentais para a elucidação do papel do ascorbato nessa porção tão importante para a manutenção da homeostase no organismo.

5.5 HISTAMINA

5.5.1 Histamina Muscular

Os resultados obtidos da quantificação histaminica nesse tecido, mostraram-nos que no grupo sedentário ocorre uma elevação dos teores de histamina em resposta ao exercício agudo tanto nos subgrupos com normo, como nos subgrupos com hipervitaminose.

Os achados, também clássicos, na literatura, como os de ANREP et al (1935), SCHAYER (1959), demonstraram ocorrer em situações de estresse (específico, como o exercício físico, ou inespecífico), um aumento na capacidade de formação de histamina e conseqüentemente de seus níveis séricos e/ou teciduais.

SAMPAIO BARROS (1993), AZEVEDO (1994), em seus experimentos com ratos exercitados, também constataram aumento semelhante de histamina no músculo esquelético exercitado agudamente.

Considerando os potentes efeitos da histamina sobre a vasculatura já descritos por DALE et al no início do século (1910, 1911), muitos autores procuraram relacionar a maior liberação de histamina muscular, nessas situações de estresse, aos delicados ajustes da microcirculação que ocorrem nesse momento (REILLY, SCHAYER, 1970, OWEN et al, 1982).

Durante o exercício físico, ocorre no músculo em atividade um aumento crítico da demanda de oxigênio e outros nutrientes. Procurando favorecer o metabolismo muscular, iniciam-se no organismo uma série de adaptações, acompanhadas de vasodilatação importante nesse tecido.

Um dos mecanismos propostos para essa vasodilatação pressupõe a acumulação de metabólitos vasoativos em decorrência da isquemia local (OWEN et al, 1975). Dentre os metabólitos acumulados em decorrência do desequilíbrio entre oferta e demanda de oxigênio, encontra-se o ácido láctico, resultante da glicólise não oxidativa, um dos responsáveis pela acidificação do pH local. A enzima histidina descarboxilase, responsável pela síntese de histamina a partir do aminoácido histidina, tem sua atividade aumentada em pH mais ácido, como constatado por HAKANSON (1963). Dessa forma é possível que a histamina, cuja síntese encontraria-se favorecida, e que efetivamente é observada estar em concentração mais elevada no músculo esquelético nessa situação, seja um dos "metabólitos" participantes da homeostasia vascular no tecido em questão, durante a realização de trabalho.

Com o treinamento, os valores médios discretamente elevados na condição de exercício agudo quando comparados à situação de repouso, não tiveram significância estatística.

De acordo com SOARES (1992) o aumento do tamanho das fibras decorrente da hipertrofia muscular, pode aumentar as distâncias entre os capilares e o centro das células, aumentando as distâncias de difusão e reduzindo com isso, a troca de oxigênio a partir do sangue, se o aumento do volume celular não for compensado por adaptações apropriadas no suprimento capilar. Tem sido descrito na literatura, que o treinamento físico resulta em modificação da capilarização (resultando em sua otimização) dos músculos envolvidos na atividade física, acompanhando o processo de hipertrofia muscular (ADOLFSSON, LJUNQUIST, TORNLING et al, 1981).

Considerando-se que a liberação de histamina observada no músculo esquelético seja decorrente da maior ativação da enzima descarboxilase em pH ácido, e tenha a finalidade de proporcionar vasodilatação e conseqüentemente maior equilíbrio ao metabolismo desse tecido, é possível que a maior capilarização que ocorre no músculo esquelético exercitado regularmente, resultando em melhora da oferta de oxigênio (e portanto menor ativação enzimática) em situações de estresse, associada a otimização de outros fatores que levem à vasodilatação local contribuam para uma menor liberação da histamina no músculo esquelético, observada nas cobais treinadas e exercitadas agudamente. AZEVEDO (1994) faz também referência à capacidade de captação e metabolização da histamina observada na musculatura vascular lisa de ratos descrita por HOLCSLAW, WILSON, NICHOLS (1984), sugerindo que o treinamento físico poderia resultar no aumento da capacidade de remoção da histamina, em conseqüência a maior capacidade de captação e metabolização desenvolvida pela musculatura lisa vascular.

Constatamos ainda no grupo sedentário, uma elevação significativamente menor de histamina no subgrupo exercitado agudamente na condição de hipervitaminose, quando comparado ao subgrupo com

normovitaminose. Resultados que nos permitem sugerir que a condição de hipervitaminose provavelmente tenha prevenido a elevação da histamina tecidual, uma vez que no repouso as diferenças entre os subgrupos com e sem suplementação vitamínica não foram significativas.

A literatura relata uma íntima associação entre histamina e ácido ascórbico. É conhecido que a histamina quando adicionada a um sistema contendo ascorbato, desde que em presença de uma substância catalisadora (condição *sine qua non*) como cobre ou homogenado tissular, pode ser totalmente catabolizada (com a auto-oxidação do ácido ascórbico em ácido deidroascórbico) em ácido aspártico, tendo como intermediários o ácido acético 2,4-diidroxi-imidazole e o ácido hidantoína-5-acético (CHATERJEE, MAJUNDER, NANDI et al, 1975), através do rompimento de sua porção imidazole (SUBRAMANIAN et al, 1973).

SUBRAMANIAN et al (1973) considerando o aumento da síntese de ascorbato (detectado pela excreção renal aumentada dessa substância) como uma resposta à indução de formação de histamina (constatada pela elevação da HFC), estimulada pela injeção de alguns compostos em ratos, propôs que a produção em excesso de ascorbato (portanto, numa espécie animal com capacidade de síntese dessa vitamina, como o rato) em resposta ao aumento da formação da histamina constituiria um mecanismo de defesa natural para detoxificar o organismo do excesso de histamina produzida.

CHATERJEE et al (1975) descreve um trabalho onde foi analisada, em cobaias, a excreção urinária de histamina sob condição de estresse e administração de ácido ascórbico. Foi observada uma elevação na excreção urinária de histamina na situação de estresse, que entretanto foi significativamente diminuída com a administração de ácido ascórbico (5 mg/ 100g de peso corpóreo - dose considerada por esses autores como ideal para determinar alterações nas concentrações de histamina em situações de estresse).

JOHNSTON e HUANG (1991) estudando o efeito da complementação dietética de ácido ascórbico na histamina sanguínea de cobaias, observaram uma diminuição significativa da concentração de histamina sérica no grupo com hipervitaminose, quando comparado aos grupos com normo e hipovitaminose.

Em nosso experimento, observamos o comportamento da histamina a nível tissular. Há poucos relatos na literatura sobre o efeito do ácido ascórbico nas concentrações de histamina tecidual. É possível que a ausência de significado estatístico nas diferenças observadas entre os subgrupos com hiper e normovitaminose em repouso sejam decorrentes de uma dinâmica diferente entre a histamina tecidual e circulante com o ascorbato, ou ainda decorrente da dosagem de suplementação que adotamos nesse experimento (35 mg/Kg peso coróreo), inferior à preconizada por CHATERJEE et al (1975) como ideal: 50 mg/Kg para produzir os efeitos relativos à histamina. Ao determinarmos a suplementação, procuramos adotar uma dose que resultasse numa complementação moderada, partindo do pressuposto da existência prévia de um *status* basal de vitamina C dentro dos limites de normalidade - 35 mg/Kg peso corpóreo é uma dose que equivale para o homem, a pouco mais que dois gramas diários num indivíduo de aproximadamente 60 Kg.

Entretanto, a despeito dos valores em repouso, houve uma menor elevação de histamina no músculo dos animais exercitados agudamente, na condição de hipervitaminose. Portanto, é possível que essa dosagem embora não determine diminuição do valor basal de histamina muscular seja capaz de reduzir a histamina neo-formada ou neo-liberada na condição de estresse.

5.5.2 Histamina Cardíaca

No músculo cardíaco observamos concentrações mais elevadas de histamina nos animais exercitados agudamente do que naqueles em repouso, tanto nas situações de normo como hipervitaminose.

Os trabalhos de ANREP e colaborador (1935, 1936) analisando o efeito de situações adversas sobre o equilíbrio da histamina nos músculos esquelético e cardíaco constituem referência para quase todos os trabalhos que procuram estudar o comportamento da histamina no sistema cardiovascular em condições adversas, como nas reações anafiláticas, em resposta a administração de determinados compostos químicos e também na isquemia miocárdica. Situações adversas como estas costumam relacionar-se a perturbações importantes no equilíbrio da histamina no tecido cardíaco.

Nas últimas décadas, foram desenvolvidos muitos estudos procurando analisar o comportamento da histamina na situação de isquemia aguda miocárdica (KIPSHIDZE, BARIGYAN, 1967, GRIFFITHS, LEUNG, 1971, MASINI, GIANELLA, BIANCHI et al, 1987) e na situação de reperfusão pós isquemia (MASINI, GAMBASSI, GIANELLA et al, 1990, MASINI, BIANCHI, GAMBASSI et al, 1990, VALEN, KASZAKI, SZABO et al, 1993a, VALEN et al, 1993b). Na grande maioria desses trabalhos, foram detectadas elevações dos teores de histamina no próprio tecido cardíaco, no perfusato de preparações de coração isolado, ou ainda no sangue venoso sistêmico ou emergente das artérias coronárias, principalmente na situação de reperfusão.

Quando um organismo é submetido a um esforço físico não habitual, como as cobaias sedentárias exercitadas anteriormente ao sacrifício, podemos admitir que está sendo-lhe imposta uma condição que pode afetar sobremaneira seu equilíbrio interno, resultando em modificações em vários dos sistemas orgânicos para manter sua homeostasia. No músculo esquelético em atividade, como discutimos no subitem anterior, ocorre vasodilatação. É necessário

entretanto, que todo o sistema de transporte sofra uma alteração de modo que o músculo possa ser suprido adequadamente.

O coração, como órgão central desse sistema de transporte, otimiza sua função como bomba, aumentando força e frequência contráteis, o que não deixa de representar-lhe uma sobrecarga. O sistema arterial coronário que deve ser capaz de suprir a nova demanda energética do coração, sofre influência histamínica na regulação de seu tônus, de modo que a ativação dos receptores histaminérgicos induzem ao seu relaxamento através de ação mediada pelo endotélio - receptores H_1 (na presença de lesão aterosclerótica, a estimulação dos receptores H_1 levam à vasoconstrição coronária) e direta - receptores H_2 (TODA, 1987).

É possível que exista nos sedentários uma liberação maior de histamina em resposta ao exercício agudo, com finalidade de otimizar tanto a função contrátil (em frequência e inotropismo) quanto o suprimento de oxigênio ao coração. Entretanto, qual seria o sinal interpretado pelo tecido cardíaco para aumentar a síntese e/ou liberação dessa amina? ANREP et al (1936) observaram dentre as condições que afetaram a síntese de histamina no miocárdio, uma elevação importante dessa amina em resposta à administração de adrenalina. É reconhecido que durante a realização do exercício agudo, principalmente em indivíduos não habituados, ocorre uma elevação considerável dos níveis circulantes de catecolaminas. É possível que o aumento das catecolaminas contribua, pelo menos em parte, para a elevação da histamina miocárdica nessa situação.

Na condição de isquemia e/ou reperfusão existem outros fatores que não existem na situação de estresse imposto ao coração pelo exercício, que poderiam determinar tanto a síntese como a liberação de histamina, como por exemplo disfunção celular grave ao ponto de levar a célula à morte com conseqüente liberação de metabólitos, que normalmente não seriam carreados para a circulação

coronária. Embora esses eventos possam não ter um denominador comum no mecanismo pelo qual afetam o equilíbrio da histamina, resultam no aumento final de sua concentração no miocárdio.

Referindo-se às potentes ações da histamina sobre o sistema cardiovascular, em especial sobre o coração, muitos autores preocupam-se com os possíveis efeitos indesejáveis nos quais sua produção em excesso possa resultar, e embora não exista nenhum trabalho conclusivo sobre o grau de implicação do aumento da histamina no miocárdio em situações adversas, muitos trabalhos sugerem seu envolvimento como participadora de processos arritmogênicos (CAMERON, GAIDE, GOAD et al, 1985, WOLFF et al, 1986, DAI, 1987).

Nos animais sedentários que receberam complementação vitamínica, constatamos uma diminuição significativa nos teores de histamina quando comparados aos seus respectivos controles (SED-R-N vs SED-R-H; TRE-R-N vs TRE-R-H). O subgrupo com hipervitaminose exercitado agudamente embora tenha apresentado elevação significativa em relação ao seu controle - repouso, atingiu níveis significativamente menores do que o subgrupo com normovitaminose submetido ao exercício agudo (SED-A-N vs SED-A-H).

Os animais treinados por sua vez, em repouso e na condição de normovitaminose, em concordância com os achados de SAMPAIO BARROS (1993) apresentaram níveis menores de histamina que seus respectivos controles sedentários (SED-R-N vs TRE-R-N). A elevação observada nos animais treinados exercitados agudamente, embora ainda tenha sido significativa no subgrupo com hipervitaminose, foi menor quando comparada à elevação apresentada pelos animais sedentários (TRE-R-N vs TRE-A-N; TRE-R-H vs TRE-A-H). E ainda, comparando os níveis de histamina dos animais exercitados agudamente, pudemos observar, que os treinados na condição de hipervitaminose apresentaram uma elevação

significativamente menor que os sedentários com normovitaminose (SED-A-N vs TRE-A-H).

A partir desses resultados, sugerimos que o treinamento físico provavelmente leva a adaptações funcionais no coração, também no que se refere aos mecanismos “controladores” da síntese e liberação de histamina, em resposta a estímulos causadores de estresse. Alguns fatores poderiam contribuir para esse maior “controle” nos animais treinados: otimização do sistema de transporte cardiovascular como um todo, resultando em menor estresse ao coração que passa a trabalhar em regime de maior equilíbrio entre a oferta e demanda de oxigênio mesmo em situações de estresse; menor liberação de metabólitos e/ou substâncias, que à semelhança das catecolaminas estimulariam a síntese e/ou liberação de histamina; entre outros.

Associando nossos achados aos de BOWLE et al (1992,1994), que constataram no miocárdio de ratos treinados, uma maior tolerância ao dano decorrente da isquemia-reperfusão, poderíamos sugerir que o treinamento físico possa também proporcionar maior “estabilidade” ao funcionamento cardíaco em situações de estresse, como o exercício agudo, através da prevenção ou atenuação das elevações da histamina cardíaca.

Um fato interessante que observamos a partir da análise dos resultados referentes à histamina muscular e cardíaca é o de que as modificações (reduções) mais significativas observadas nos teores dessa amina, foram detectadas nos animais sedentários. Essa constatação parece-nos reforçar a idéia da efetividade do treinamento físico em desenvolver um maior controle sobre a síntese e/ou liberação de histamina, por mecanismos diversos, de modo que o ascorbato influencie menos os teores de histamina tissular nos animais treinados que nos sedentários.

Outra consideração que talvez mereça ser feita, é a de que o efeito mais pronunciado do ascorbato sobre os teores histamínicos ocorreu na condição de exercício agudo e menos na condição de repouso. Como comentado anteriormente, o músculo esquelético e o coração são órgãos que apresentam pequena incorporação de de ascorbato. A glândula adrenal, ao contrário é um dos órgãos com maior capacidade de incorporação de ácido ascórbico, e com outra característica importante: em resposta ao estresse ocorrem grandes liberações de ascorbato a partir desse sítio glandular, determinando neste uma depleção significativa de ácido ascórbico. A finalidade do maior “vazamento” dessa vitamina a partir de sítios com grande capacidade de incorporação, como a adrenal, tem sido creditada por alguns autores como um meio de fornecer ao organismo uma substância com capacidade redutora, que pode ser crítico para a síntese de alguns hormônios, aminas biogênicas (catecolaminas) e ainda funcionar como *scavenger* de radicais livres (substâncias com poder altamente lesivo sobre as células, e tecidos) cuja produção parece estar aumentada no músculo em exercício (BUZZINI, MATSUDO, 1990). E embora não passe de uma conjectura, poderíamos ainda, associar a liberação de ascorbato pela glândula adrenal no estresse, com o efeito mais pronunciado no tecido cardíaco.

Podemos sugerir ainda que a condição de hipervitaminose parece ter contribuído para a prevenção da elevação dos níveis histamínicos, também nos animais treinados, onde a aplicação continuada e regular do mesmo estímulo causador de estresse já parecia, por si só, ter levado a uma diminuição no teor de histamina cardíaca tanto na condição de repouso quanto na situação de estresse.

5.6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os dados aos quais chegamos permitem-nos sugerir que a utilização das sessões de 30 minutos de nado livre foram de intensidade suficiente para determinar, em cobaias, adaptações orgânicas a curto e a longo prazo, constituindo portanto um protocolo útil, para o estudo dos efeitos do exercício físico nessa espécie animal. A depleção do glicogênio hepático e muscular, bem como a elevação do lactato sanguíneo observados em resposta ao exercício agudo reproduziram os relatos da literatura. O estresse desencadeado pelo exercício agudo também levou a modificações significativas dos teores histamínicos em dois tecidos altamente solicitados durante a atividade física: do próprio músculo em exercício e cardíaco.

A repetição do estímulo causador de estresse, ou seja, a repetição regular das sessões de treinamento, levou ao desenvolvimento de adaptações compatíveis com as descritas na literatura como sendo decorrentes do treinamento físico. Observamos hipertrofia muscular num dos músculos mais utilizados pelas cobaias durante a atividade de natação pelas cobaias - músculo tríceps anterior, muito embora não tenhamos notado uma redução significativa no ganho de peso corporal que seria esperado com o treinamento físico. A adaptação constatada a nível dos substratos energéticos como maior preservação do glicogênio hepático e muscular e menor produção de lactato, em resposta ao exercício agudo, também podem ser considerados como sinais de efetividade do protocolo de treinamento físico. O equilíbrio da histamina no músculo e no miocárdio parece ter sido também afetado pelo treinamento físico, sendo observadas menores variações de seus teores em vigência do exercício agudo.

A administração oral de vitamina C pareceu-nos um meio efetivo para indução da condição de hipervitaminose em cobaias, desde que as glândulas adrenais dos animais com suplementação apresentaram teores significativamente mais elevados de ascorbato. A condição de hipervitaminose por sua vez pareceu

influir nos valores absolutos de praticamente todas as variáveis bioquímicas analisadas, determinando diminuição algumas vezes significativas em alguns substratos.

Observamos em nossos animais uma diminuição significativa dos estoques de glicogênio hepático nos animais sedentários que receberam suplementação vitamínica na condição de repouso. Nos demais subgrupos, assim como nos demais subgrupos dos outros substratos energéticos analisados, encontramos diminuições que embora não tivessem significado estatístico revelaram-se sempre presentes. Conquanto exista um relato conflitante na literatura acerca dos efeitos do ascorbato sobre os níveis sangüíneos de lactato, o mesmo não ocorre para o glicogênio, sobre o qual não há nada descrito. Sugerimos que o lactato diminuído, observado também por outros pesquisadores, talvez possa ser um dos fatores que levem à diminuição da formação do estoque de glicogênio hepático, levando-se em consideração a hipótese do "paradoxo da glicose" segundo a qual o glicogênio hepático seria formado predominantemente através da gliconeogênese a partir, principalmente, do lactato. Entretanto, como para o músculo não é aplicável a mesma hipótese, sugerimos que à semelhança do que possa ocorrer com o lactato, a redução do ascorbato em ácido deidroascórbico, com conseqüente liberação de dois íons H^+ , possa interferir na funcionalidade de alguma(s) da(s) etapa(s) metabólicas que levam à síntese de de glicogênio muscular.

Portanto, embora o ascorbato pareça reduzir os níveis circulantes de lactato, pode ter um efeito paradoxo sobre as formações de estoque de glicogênio, o que deveria ser melhor investigado em trabalhos subseqüentes, dada a correlação existente entre os níveis de estoque de glicogênio, principalmente no músculo, e a ocorrência de fadiga muscular. A realização de estudos envolvendo diferentes doses de suplementação de vitamina C, numa mesma espécie animal, associada a métodos que possam fornecer dados mais pormenorizados acerca de

etapas críticas na formação desses substratos, podem ser proveitosos no auxílio da busca de maior esclarecimento sobre a funcionalidade do ascorbato nesse sistema.

As elevações do conteúdo de histamina na situação de exercício agudo indicam-nos que seu equilíbrio nos tecidos cardíaco e muscular, principalmente nos animais sedentários, foi perturbado. Se considerarmos a hipótese de que o aumento da concentração de histamina pode potencializar ou desencadear efeitos indesejáveis como arritmias, é possível que o treinamento físico associado à suplementação vitamínica, diminuindo efetivamente sua elevação, possa resultar em maior estabilidade do funcionamento cardíaco nas situações de estresse. Entretanto, para sabermos com exatidão em quais conseqüências essa elevação pode resultar, seriam necessários estudos envolvendo, por exemplo, a "funcionalidade" dos receptores histaminérgicos (utilizando câmeras de órgão isolado, *binding*, entre outros), o que provavelmente proporcionar-nos-ia uma maior entendimento sobre o papel dessa substância em circunstâncias de estresse.

6. CONCLUSÕES

6. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos permitiram-nos concluir que:

- A condição de hipervitaminose, bem como o treinamento físico não determinaram alteração no ganho de peso corpóreo dos animais;
- o treinamento físico resultou em hipertrofia no músculo tríceps anterior, muito solicitado nas sessões de natação pelas cobaias;
- a suplementação oral de vitamina C levou à maior incorporação de ascorbato pela glândula adrenal tanto dos animais sedentários como dos treinados;
- em resposta ao exercício agudo houve depleção dos estoques de glicogênio hepático e muscular e aumento da produção de lactato sanguíneo nos animais sedentários, ao passo que nos treinados houve uma maior preservação nos dois sítios de estoque de glicogênio, e uma redução na produção de lactato;
- o exercício agudo determinou modificações nos teores de histamina muscular e cardíaca, elevando-os em comparação ao seu valor basal; ao passo que nos animais treinados tal elevação foi menor ou não significativa, ocorrendo inclusive redução nos níveis basais de histamina cardíaca nesse grupo;
- a condição de hipervitaminose, nos animais sedentários, resultou em diminuição significativa do glicogênio muscular nos animais sedentários na condição de repouso; do lactato sanguíneo e da histamina muscular nas cobaias exercitadas; e de histamina cardíaca nos animais em repouso e exercitados agudamente.

***REFERÊNCIAS
BIBLIOGRÁFICAS***

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS¹¹

ADOLFSSON, J., LJUNCQVIST, A., TORNLING, G., UNGE, G. Capillary increase in the skeletal muscle of trainde young and adult rats. **J. Physiol.**, V. 310, n. 529-532, 1981.

ALMEIDA, A.P., FLYE, W., DEVERAUX, D. et al. Distribution of histamine and histaminase (diaminoxidase) in blood of various species. **Comp. Bioch. Physiol.**, v. 67, p. 187 - 190, 1980.

¹¹ De acordo com:
ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS.
Referências Bibliográficas: NB-66. In Normas ABNT, 1978, p.13 - 20.
Serial Sources for the BIOSIS data base. Philadelphia, BIOSIS, 1989 (versão 1991)

- ANDERSEN, E.B. **The statistical analysis of categorical data.** 2. ed. Berlin: Springer-Verlag, 1991. 532 p.
- ANREP, G.V., BARSOUN, G.S. Appearance of histamine in the venous blood during muscular contraction. **J. Physiol.**, v. 85, p. 409, 1935.
- _____. Liberation of histamine by the heart muscle. **J. Physiol.**, v. 86, p. 431 - 451, 1936.
- ANTON, A.H., SAYRE, D.F. A modified fluorimetric procedure for tissue histamine and its distribution in various animals. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, v. 166, n. 2, p. 285; 1968.
- ARRANG, J.-M., GARBAG, M., CANCELLOT, J.-C., LECOMTE, J.-M., POLLARD, H., ROBBA, M., SCHUNACK, W., SCWARTZ, J., -C. Highly potent and selective ligands for histamine H₃-receptors. **Nature**, v. 327, p. 117 - 123, 1987.
- ARRANG, J.-M., GARBAG, M., SCHWARTZ, J.-C. Autoinhibition of brain histamine release mediated by a novel class (H₃) of histamine receptor. **Nature**, v. 302, p. 832 - 837, 1983.
- ASH, A.S.F., SCHILD, H.O. Receptors mediating some actions of histamine. **Br. J. Pharmacol.** v. 27, p. 427 - 439, 1966.

ÅSTRAND, P.-O., CUDDY, T.E., SALTIN, B., STENBERG, J. Cardiac output during submaximal and maximal work. **J. Appl. Physiol.**, v. 19, p. 268 - 274, 1964.

ÅSTRAND, P. -O., RODAHL, K. **Textbook of work physiology**. Physiological bases of exercise. New York: McGraw Hill, 1986. 756 p. pp. 412 - 485.

AZEVEDO, J.R.M. **Determinação de parâmetros bioquímicos em ratos sedentários e treinados durante e após o exercício agudo de natação**. Campinas: UNICAMP, 1994. 175p. Tese (Doutorado em Ciências - área de Fisiologia) - Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, 1994.

BALDWIN, K., WINDER, W., TERJUNG, R., HOLLOSZY, J. Glycolytic capacity of red, white and intermediate muscle: adaptative response to running. **Med. Sci. Sports**, v.4, n. 50 - 57, 1972.

BAGBY, G.J., GREEN, H.J., KATSUTA, S., GOLLNICK, P.D. Glycogen depletion in exercising rats infused with glucose, lactate, or pyruvate. **J. Appl. Physiol.** , v. 45, p. 425 - 529, 1978.

BARGER, G., DALE, H.H. The presence in ergot and physiological activity of beta -imidazolylethylamine. **J. Physiol.** , v. 40, p. 38, 1910, **apud DOUGLAS, W. W. Autacoids. (...)**, 1985.

BARNARD, R.J., EDGERTON, V.R., PETER, J.B. Effect of exercise on skeletal muscle. I. Biochemical and histological properties. **J. Appl. Physiol.**, v. 28, p. 762 - 769, 1970.

- BEAVEN, M.A. Factors regulating availability of histamine at tissue receptors. In: GANELLIN, C.R., PARSONS, M.E. **Pharmacology...**, 1982. pp. 103 - 145.
- BENDER, A.E., NASH, A.H. Vitamin C and physical performance. **Plant Foods Man**, v. 217, n. 217 - 231, 1975.
- BENNARDINI, F., AMERINI, S., FRANCONI, F., LEDDA, F., MANTELLI, L., MATUCCI, R., MUGELLI, A., SORBI, C. On the presence of H₁ receptors in various sections of guinea-pig heart: a correlation between binding and functional studies. **Agents Actions**, v. 15, n. 3/4, 1984.
- BERGSTEN, P., MOURA, A.S., ATWATER, I. LEVINE, M. The effect of ascorbic acid in pancreatic beta cells: the regulation of membrane potential. VIII Reunião Anual da Federação de Sociedades de Biologia Experimental. **Resumos**. p. 278, 1993.
- BERGSTROM, J., HERMASSEN, L., HULTMAN, E., SALTIN, B. Diet muscle glycogen, and performance. **Acta Physiol. Scand.** v.7, p. 140 - 150, 1967.
- BERGSTROM, J., HULTMAN, E. Muscle glycogen synthesis after exercise: an enhancing factor localized to the muscle cells in man. **Nature**, v. 210, p. 309 - 310, 1966.
- BERKOW, R., FLETCHER, A.J. (ed) **Manual Merck de Medicina**. 15a. ed. São Paulo: Roca, 1987. 2932p.

BERNE, R.M., LEVI, M.N. **Fisiologia**. 2. ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1990. 829 p.

BIELSKI, B.H., RICHTER, H.W. Some properties of the ascorbate free radical. **Ann. N. Y. Acad. Sci.**, v. 258, p. 231- 242, 1975.

BLACK, J.W., DUNCAN, W.A.M., DURANT, C.J., GANELLIN, C.R. PARSONS, E.M. Definition and antagonism of histamine H₂- receptors. **Nature**, v. 236, p. 385 - 390, 1972.

BLOMQVIST, C.G. Cardiovascular adaptations to physical training. **Ann. Rev. Physiol.**, v. 45, p. 169 - 189, 1983.

BONEN, A., HOMONKO, D.A. Effects of exercise and glycogen depletion on glyconeogenesis in muscle. **J. Appl. Physiol.**, v. 76, n.4, p. 1753 - 1758, 1994.

BOURNE, G.H. Nutrition and exercise. In: FALLS, H.B. **Exercise Physiology**. 8a. ed. Academic Press, 1968.

BOWLES, D.K., FARRAR, R.P., STARNES, J.W. Exercise training improves cardiac function following ischemia in the isolated working rat heart. **Am. J. Physiol.**, v. 263, n.32 (Heart Circ. Physiol), p. H804 - H809, 1992.

BOWLES, D.K., STARNES, J.W. Exercise training improves metabolic response after ischemia in isolated working rat heart. **J. Appl. Physiol.**, v. 76, n.4, p. 1608 - 1614, 1994.

- BOYD, M.E., ALBRIGHT, E.B., FOSTER, D.W., McGARRY, J.D. *In vitro* reversal of the fasting state of liver metabolism in the rat. **J. Clin. Invest.**, v. 68, p. 142 - 152, 1981.
- BROOKS, G.A. The lactate shuttle during exercise and recovery. **Med. Sci. Sports Exerc.**, v. 18, n.3, p.360 - 368, 1986
- BROOKS, G.A., FAHEY, T.D. **Fundamentals of human performance**. New York: McMillan Publishing Company, 1987. 464p.
- BURTON, B.T. **Human Nutrition. A textbook of nutrition in health and disease**. 3a. ed. New York: H.J.Hernz, 1976. 530 p.
- BUZZINI, S.R., MATSUDO, V.K.R. Radicais livres, exercício e envelhecimento. **Rev. Bras. Ciência Mov.**, v. 4, n. 4, p.61 - 85, 1990.
- CAMERON, J.S., GAIDE, M.S., GOAD, P.L., ALTMAN, C.B., CUEVAS, J., MYEBURG, R.J. Enhanced adverse electrophysiologic effects of histamine after myocardial infarction in guinea pigs. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, v. 232, n.2, p. 480 - 484, 1985.
- CANNON. The emergency function of the adrenal medulla in pain and the major emotion. **Am. J. Physiol.**, v.33, p. 356 - 372, 1914.
- CHATERJEE, I.B. Evolution and the biosynthesis of ascorbic acid. **Science**, v. 182, p. 1271 - 1272, 1975.

CHATERJEE, I.B., MAJUMDER, K., NANDI, B.K., SUBRAMANIAN, N.

Synthesis and some major functions of vitamin C on animals. **Ann. N. Y. Acad. Sci.**, v. 258, p. 24 - 45, 1975.

CLAUSEN, J.P. Effect of physical training on cardiovascular adjustments to exercise in man. **Physiol. Rev.**, v. 57, p. 779 - 815, 1977.

COGGAN, A.R., SPINA, R.J., KOHRT, W.M., HOLLOSZY, J.O. Effect of prolonged exercise on muscle citrate concentration before and after endurance training in man. **Am J. Physiol.**, v.64, p. 215 - 220, 1993.

CONLEE, R.K., McLANE, J.A., RENNIE, M.J., WINDER, W.W., HOLLOSZY, J.O. Reversal of phosphorylase activation in muscle despite continued contractile activity. **Am. J. Physiol.**, v. 237, p. R291 - R296, 1979.

CORNATZER, W.E. (ed.) **Role of nutrition in health and disease**. Springfield: C.C. Thomas, 1989. 423p.

DABNEY, J.M., SWINDALL, B.T., JOHNSTONE, J.R. et al. Effects of an H₂-receptor antagonist on histamine - induced transvascular protein transport. **Physiologist**, v.20, p.20, 1977.

DAI, S. Ventricular histamine concentrations and arrhythmias during myocardial ischaemia in rats. **Agents Actions**, v. 21, n. 1/2, p. 66 - 71, 1987.

DALE, H.H. Some chemical factors in the control of the circulation. **Lancet**, v.1, p.1179, 1233, 1285 ; 1929.

DALE, H. H., LAIDLAW, P. P. The physiological action of beta-iminozolyethylamine. **J. Physiol.**, v. 41, p. 318 - 344, 1910

_____. Further observations on the action of beta-iminozolyethylamine. **J. Physiol.**, v. 43, p. 182 - 195, 1911.

_____. Histamine shock. **J. Physiol.**, v. 52, p. 355 - 390, 1919.

DOBBINS, D.E., CREED, C.A., DABNEY, J.M. Effects of a histamine H₂-receptor antagonist on bradykinin-induced transvascular protein transport. **Microvasc. Res.**, v. 17, p. S38, 1979.

DONNOVAN, C.M., PAGLIASSOTTI, M.J. Enhanced efficiency of lactate removal after endurance training. **J. Appl. Physiol.**, v. 68, p. 1053 - 1058, 1990.

DOUGLAS, W.W. Autacoids. In GOODMAN, L.S., GILMAN, A.; GODMAN-GILMAN, A. **The pharmacological basis of therapeutics**. 27. ed., New York: McMillan Publishing Company, 1980.

DUAN, C., WINDER, W.W. Effect of endurance training on activators of glycolysis in muscle during exercise. **J. Appl. Physiol.**, v. 76, n.2, p. 846 - 852, 1994.

DUBOWITZ, V., BROOKE, M.H. **Muscle biopsy: a modern approach**. London: Saunders, 1973. 475p.

- ESCOURROU, P., JOHNSON, D.G., ROWELL, L.B. Hypoxemia increases plasma catecholamine concentrations in exercising humans. **J. Appl. Physiol.**, v. 57, p.1507 - 1511, 1984.
- EULER, U.S. von. Relationship between histamine and the autonomic nervous system. **In: ROCHA e SILVA, M. (ed) Handbook...**, 1966, p. 318 - 333.
- FAVIER, R.J., CONSTABLE, S.H., CHEN, M., HOLLOSZY, J.O. Endurance exercise training reduces lactate production. **J. Appl. Physiol.**, v. 61, p. 885 - 889, 1986.
- FLAKE, W., ATANAKOVIC, D., GILLIS, R.A. et al. The actions of histamine on the mammalian heart. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, v. 155, p. 271 - 278, 1967.
- FLETCHER, K. Observations on the origin of liver fat in infantile malnutrition. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 19, n. 170 - 174, 1966.
- FLYNN, S.B., GRISTWOOD, R.W., OWEN, D.A.A. Differentiation of the roles of histamine H₁ - and H₂ - receptors in the mediation of the effects of histamine in isolated working heart of the guinea-pig. **Br. J. Pharmacol.**, v. 65, p. 127 - 137, 1979.
- FOLKOW, B., HAEGER, K., KAHLSON, G. Observations on reactive hypaeremia as related to histamine, on drugs antagonising vasodilation induced by histamine and on vasodilator properties of adenosine triphosphate. **Acta Physiol. Scand.** v. 15, p. 264 - 278, 1948.

- FOX, E.L., BOWERS, R.W., FOSS, M.L. **Bases fisiológicas da educação física e dos desportos.** 4a. ed., Rio de Janeiro: Guanabara, 1991, 518 p.
- GANELLIN, C.R., PARSONS, M.E. **Pharmacology of histamine receptors.** Bristol: Wright, 1982. 521 p.
- GARLAND, C.J., KEATINGE, W.R. Constrictor actions of acetylcholine, 5-hydroxytryptamine and histamine on bovine coronary artery inner and outer muscle. **J. Physiol.**, v. 327, p. 363 - 376, 1982.
- GEY, G.O., COOPER, K.H., BOTTENBERG, R.A. Effect of ascorbic acid on endurance performance and athletic injury. **JAMA**, , v. 211, p. 105, 1970.
- GINSBURG, R., BRISTOW, M.R., STINSON, M.R., HARRISON, D. N. Histamine receptors in the human heart. **Life Sci.**, v. 26, p. 2245 - 2249, 1980.
- GIROUD, A., RATSIMAMANGA, A.R. **Arch. Hosp.** v.2, p. 891, 1939, **apud** BOURNE, G.H. Nutrition..., 1968.
- GOBATTO, C.A. **Alterações metabólicas decorrentes do treinamento físico em ratos previamente desnutridos e recuperados.** Campinas: UNICAMP, 1993. 124p. Dissertação (Mestrado em Biologia - área de Fisiologia) - Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, 1993.
- GOLLNICK, P., ARMSTRONG, R., SAUBERT, C., PIEHL, K., SALTIN, B. Enzyme activity and fiber composition in skeletal muscle untrained and trained men. **J. Appl. Physiol.**, v.33, n. 3, p. 312 - 319, 1972.

- GOLLNICK, P.D., ARMSTRONG, R.B., SAUBERT, I.V., SEMBROWICH, W., SHEPHERD, R.E. Effect of training on enzyme activity and fiber composition of human skeletal muscle. **J. Appl. Physiol.**, v. 34, n.1, p. 107 - 111, 1973.
- GOTH, A. On the general problem of the release of histamine. In: ROCHA e SILVA, M. (ed) **Handbook of experimental pharmacology**. Berlin: Springer-Verlag, v.18, Part 2, 1978, **apud** BEAVEN, M.A. Factors...1982.
- GRAHAM, H.T., LOWRY, O.H., WHEELWRIGHT, F. et al. Distribution of histamine among leukocytes and platelets. **Blood**, v.10, p. 467 - 481, 1955.
- GRAHAM, P., KAHLSON, G., ROSENGREN, E. Histamine formation in physical exercise, anoxia and under the influence of adrenaline and related substances. **J. Physiol.**, v. 172, p.174 - 188, 1964.
- GREEN, J.P., PRELL, G.D., KHANDEWAL, J.K., BLANDINA, P. Aspects of histamine metabolism. **Agents Actions**, v. 22, n.1/2, 1- 15, 1987.
- GRIFFITHS, J., LEUNG, F. The sequential estimation of plasma catecholamine and whole blood histamine in myocardial infarction. **Am. Heart J.**, v. 82, p. 171 - 179, 1971.
- GROSS, S.R., MAYER, S.E. Regulation of phosphorilase b to a conversion in muscle. **Life Sci.**, v. 14, p. 401 - 414, 1974.

HAGEMAN, G.R., URTHALER, F., ISOBE, J.H. et al. Chronotropic and dromotropic effects of histamine on the canine heart. **Chest**, v.75, p. 597 - 604, 1979.

HAKANSON, R. **Bioch. Pharmacol.**, v. 12, p. 1289, 1963. **apud** KAHLSON, G., ROSENGREN, E. *Histamine...*, 1965.

HAKANSON, R., LARRSON, L.-I., SUNDLER, F. Endocrine-like cells in rat stomach: effects of hydroxydopa on amine stores and aminic acid decarboxylase activities. A chemical, fluorescence histochemical and electron microscopic study. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, v. 191, p. 92 - 101, 1974.

HAKANSON, R., RONNBERG, A.L., SJOLUND, K. Fluorimetric determination of histamine with OPT: optimum reaction conditions and tests of identity. **Ann. Bioch.**, v. 47, p. 356, 1972.

HANSEN, J.F.B., HESSE, B., CHRISTENSEN, N.J. Enhanced sympathetic nervous activity after intravenous propranolol in ischaemic heart disease: plasma noradrenaline, splanchnic blood flow and mixed venous oxygen saturation at rest and during exercise. **Eur. J. Clin. Invest.**, v. 8, p.31 - 36, 1978.

HARPER, H.A. **Manual de química fisiológica**. São Paulo: Atheneu Editora, 1968. 533p.

HARRIS, L.J. Vitamin C. **Brit. Med. Bull.**, v.12, p. 57 - 60, 1956.

HARVEY, C.A., OWEN, D.A.A. Effect of histamine on uterine vasculature in rats.

Eur. J. Pharmacol., v. 56, p. 293 - 296, 1979.

HASSID, N. Z., ABRAHAMS, S. Chemical procedures for analysis of polysaccharides. **Methods Enzimol.**, v. 3, p. 34 - 51, 1957.

HAWORTH, W.N., HIRST, E.L. **J. Soc. Chem.**, v. 52, p. 645 - 646, 1933. **apud** HORNIG, D.H. et al. Ascorbic acid...1988.

HERMANSEN, L.E., HULTMAN, E., SALTIN, B. Muscle glycogen during prolonged severe exercise. **Acta Physiol. Scand.**, v.17, p. 129 - 139, 1967.

HERMANSEN, L.E., WACHTLOVA, M. Capillary density skeletal muscle in well trained and untrained men. **J. Appl. Physiol.**, v.30, n.6, p. 860 - 863, 1971.

HOLCSLAW, T., WILSON, C., NICHOLS, G. Histamine uptake and metabolism in the blood vessels of rats. **Agents Actions**, v. 15, n. 3/4, p. 202 - 210, 1984.

HOLLOSZY, J.O., BOOTH, F.W. Biochemical adaptation to exercise training in muscle. **Ann. Rev. Physiol.**, v. 38, p. 273 - 291, 1976.

HOLLOSZY, J.O., COYLE, E.F. Adaptations of skeletal muscle to endurance exercise and their metabolic consequences. **J. Appl. Physiol.**, v. 56, p. 831 - 838, 1984.

HOLST, A., FROLICH, T. Experimental studies relating to ship-beri-beri and scurvy. II. On the etiology of scurvy. **J. Hygiene**, v.7, n.5, p. 634 - 671, 1907.

- HORNIG, D.H. Distribution of ascorbic acid, metabolites and analogues in man and animals. **Ann. N.Y. Ac. Sci.**, v. 258, p. 103 - 118, 1975.
- HORNIG, D.H., MOSER, U., GLATTHAAR, B.E. Ascorbic acid. In: SHILS, M.E. YOUNG, V.R (ed.) **Modern nutrition in health and disease**. 7a. ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1988. p. 417 - 435, 1694p.
- HOWALD, H., SEGESSER, B., KORNER, W.F. Ascorbic acid and athletic performance. **Ann. N. Y. Acad. Sci.** v. 258, p. 458 - 464, 1975.
- HUGHES, R.E., JONES, P.R. **Bri. J. Nutr.**, v. 25, p. 77 - 83, 1971, **apud** HORNIG, D. Distribution...**Ann. N. Y. Ac. Sci.**, v. 258, p. 103 - 118, 1975.
- HUGHES, R.E., JONES, P.R., WILLIAMS, R.S., WRIGHT, P.F. **Life Sci.**, v. 10, p. 661 - 668, 1971, **apud** HORNIG, D. Distribution ... **Ann. N. Y. Ac. Sci.**, v. 258, p. 103 - 118, 1975.
- HULTMAN, E., THOMSON, J.A., HARRIS, R.C. Work and exercise. In: SHILS, M.E., YOUNG, V.R (ed) **Modern nutrition in health and disease**. 7. ed. Phyladelphia: Lea & Febiger, 1988. 1694p. pp. 1001 - 1022.
- HUSS, W.D. van. What made the russians run? **Nutrition Today**, march, p.20 - 23, 1966.
- HUTBER, A.C., BONEN, A. Glycogenesis in muscle and liver during exercise. **J. Appl. Physiol.**, v. 66, n.6, p. 2811 - 2817, 1989.

JACKSON, M.J., EDWARDS, R.H.T., SYMONS, M.C.R. Electron-spin resonance studies of intact skeletal muscle. **Bioch. Biophys. Acta.** v. 847, p.185 - 190, 1985.

JOHNSTON, C.S., HUANG, S. Effect of ascorbic acid nutriture and blood histamine and neutrophil chemotaxis in guinea-pigs. **J. Nutr.**, v. 121, p. 126 - 130, 1991.

KAHLSON, G., ROSENGREN, E. Histamine. **Ann. Rev. Pharmacol.**, v. 5, p. 305 - 317, 1965.

_____. New approaches to the physiology of histamine. **Physiol. Rev.**, v. 48, n. 1, p. 155 - 196, 1968.

KARASOV, W.H., DARKEN, B.W., BOTTUM, M.C. Dietary regulation of intestinal ascorbate uptake in guinea pigs. **Am. J. Physiol.** (Gastrointest. Liver Physiol), v. 260, n. 23, p. G108 - G118, 1991.

KARLSSON, J., NORDESJO, L.O., JORFEDLE, L., SALTIN, B. Muscle lactate, ATP and CP levels during exercise after physical training in man. **J. Appl. Physiol**, v. 33, n.2, p. 199 - 203, 1972.

KARLSSON, J., NORDESJO, L.O., SALTIN, B. Muscle glycogen utilization during exercise after physical training. **Acta Physiol. Scand.**, v. 90, p. 210 - 217, 1974.

KEITH, M. O., PELLETIER, O. Ascorbic acid concentrations in leukocytes and selected organs of guinea pigs in response to increasing ascorbic acid intake. **Am. J. Clin. Nutr.**, v.27, p. 368 - 372, 1974.

KEITOKU, M., MARUYAMA, Y., TAKISHIMA, T. Different histamine actions in proximal and distal human coronary arteries in vitro. **Cardiovasc. Res.**; v. 24, p. 614 - 622, 1990.

KEREN, G., EPSTEIN, Y. The effect of high dosage vitamin C intake on aerobic and anaerobic capacity. **J. Sports Med.**, v. 21, p. 145 - 148, 1980.

KING, C.G. The discovery and chemist of vitamin C. **Proc. Nutr. Soc.**, v.12, p. 219 - 227, 1953.

KING, C.G., WAUGH, W.A. **Science**, v. 75, p. 357 - 358, 1932, **apud** HORNIG, D.H. et al. Ascorbic acid... 1988.

KOKUBUN, E. **Interações entre o metabolismo de glicose e ácidos graxos livres em músculos esqueléticos.** São Paulo: USP, 1990. 105 p. Tese (Doutorado em Ciências - área de Fisiologia) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, 1990.

KOTCHEN, T.A., HARTLEY, T.W., RICE, T.W., MOUGEY, E.H., JONES, L.G., MASON, J.W. Renin, norepinephrine and epinephrine responses to graded exercise. **J. Appl. Physiol.**, v. 31, p. 178 - 184, 1971.

KUIPERS, H., COSTILL, D.L., PORTER, D.A., FINK, W.J., MORSE, W.M.

Glucose feeding and exercise in trained rats mechanisms for glycogen sparing. **J. Appl. Physiol.**, v. 61, p. 859 - 863, 1986.

KUTSCHER, F. Die physiologische Wirkung einer Secalabase und des imidazolylethylamins. **Zentl. Physiol.**, v. 24, p. 163, 1910, **apud** DOUGLAS, W.W. *Autacoids (...)*, 1980.

LANE-PETER, W. The experimental animal in research. **In: ECKSTEIN, P., KNOWLES, F. (ed) Techniques in endocrine research.** London: Academic Press, 1963. 319 p.

LEVI, R., CAPURRO, N., LEE, C-H. Pharmacological characterization of cardiac histamine receptors: sensitivity to H₁ - and H₂ - receptor agonists and antagonists. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 30, p. 328 - 335, 1975.

LEVI, R., GERSHON, M.D. Chemical sympathectomy and cardiac action of histamine. **Fed. Proc.**, v. 29, p. 612, 1970.

LEVI, R., KUYE, J.O. Pharmacological characterization of cardiac histamine receptors: sensitivity to H₁ - receptor antagonists. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 27, p. 330 - 338, 1974.

LEVI, R., OWEN, D.A.A., TRZECIAKOWSKI, J. Actions of histamine on the heart and vasculature. **In: GANELLIN, C. R., PARSONS, M. E. Pharmacology of ...**, 1982.

- LEWIS, T. **The blood vessels of the human skin and their responses.** London: Shaw and sons, 1927, apud BEAVEN, M.A. Factors ...1982.
- LINGE, B. van. The response of muscle to strenuous exercise. An experimental study in the rat. **J. Bone Jt. Surg.**, v.44b, p. 711 - 721, 1962.
- LUCIANO, E. **Influências do treinamento físico sobre o metabolismo de carboidratos em ratos diabéticos experimentais.** São Paulo: USP, 1991. 108 p. (Doutorado em Ciências - área de Fisiologia) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, 1991.
- MAASSEN, N., BUSSE, M.W. The relationships between lactic acid and work load: a measure for endurance capacity or an indicator of carbohydrate deficiency? **Eur. J. Physiol.**, v. 58, p. 728 - 739, 1989.
- MAJNO, G., PALADE, G.E. Studies on inflammation I. The effect of histamine and serotonin on vascular permeability: an electron microscopy study. **J. Biophys. Biochem. Cytol.**, v. 11, p. 571 - 605, 1961.
- MALTE, K., FEELISH, M., KREBBER, T., MOTZ, W., STRAUER, B.E. Mechanisms of histamine-induced coronary vasodilation: H₁-receptor - mediated release of endothelium-derived nitric oxide. **J. Vasc. Res.**, v. 30, n. 3, p. 132 - 138, 1993.

MANNAIONI, P. Interaction between histamine and dichloroisoproterenol, hexamethonium, pempidine, and dyphenhydramine in normal and reserpine-treated heart preparations. **Brit. J. Pharmacol. Chemother.**, v. 15, p. 500 - 505, 1960.

MANNAIONI, P.F., MASINI, E. The release of histamine by free radicals. **Free Radical Biol. Med.**, v.5, p. 177 - 179, 1988.

MANNAIONI, P. F., PALMERANI, B., PISTELLI, A., GAMBASSI, F., GIANELLA, E., BANI SACCHI, T., MASINI, E. Histamine release by platelet aggregation. **Agents Actions**, v. 30, n. 1/2, p. 44 - 48, 1990.

MARSHALL, R.J., SHEPHERD, J.T. **Cardiac function in health and disease.** Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1968.

MASINI, E., GIANELLA, E., BIANCHI, S., MANNAIONI, P.F. Histamine and lactate dehydrogenase (LDH) release in ischemic myocardium of the guinea-pig. **Agents Actions** v. 20, p. 281 - 283, 1987.

MASINI, E., BIANCHI, S., GAMBASSI, F., PALMERANI, B., PISTELLI, A., CARLOMAGNO, L., MANNAIONI, P.F. Ischaemia reperfusion injury and histamine release in isolated and perfused guinea-pig heart: pharmacological interventions. **Agents Actions**, v. 30, n. 1/2, p. 198 - 201, 1990.

- MASINI, E., GAMBASI, F., GIANELLA, L., PARMERANI, B., PISTELLE, A., PISTELLI, A., CARLOMAGNO, L., MANAIONI, P. F. Ischaemia - reperfusion injury and histamine release in isolated guinea-pig heart: the role of free radicals. **Agents Actions**, v. 27, n. 1/2, p. 154 - 157, 1989.
- MASINI, E., GIANELLA, E., BIANCHI, S. et al. Histamine and lactate dehydrogenase (LDH) release in ischemic myocardium of the guinea-pig. **Agents Actions**, v.20, m. 3/4, p. 281 - 283, 1987.
- MAYER, J., MARSHALL, N.B., VITALE, J.J., CHRISTENSEN, J.H., MASHAYEKHI, M. B., STARE, F. J. Exercise, food intake and body weight in normal rats and genetically obese adult and mice. **Am. J. Physiol.**, v. 177, p.554-48, 1954.
- McINTOSH, F.C., PATON, W.D.M. The liberation of histamine by certain organic basis. **J. Physiol.**, v. 109, p. 190 - 219, 1949.
- MELLEROWICZ, H., MELLER, W. **Bases fisiológicas do treinamento físico.** São Paulo: EPU - Springer - EDUSP, 1979.
- MEYER, W.C, de BRUIN, E.J.P., BROWN, J.M.M., BIELER, E.U., MEYER, A.C., GREY, P.C. The effect of a predominantly fruit diet on athletic performance. **Plant Foods Man**, v.1, p. 1233 - 1239, 1975.
- MILLER, N.L., BOVE, A.A. Differential H_1 e H_2 receptor mediated histamine responses of canine epicardial conductance and distal resistance coronary vessels. **Circ. Res.**, v. 62, n.2, p. 226 - 232, 1988.

- MINDLIN, R.L., BUTTLER, I. The determination of ascorbic acid in plasma. A micromethod. **J. Biol. Chem.**, v. 122, p. 673 - 686, 1938.
- MOON, T.W., BRILL, R.W., HOCHACHKA, P.W., WEBER, J.M. **Canad. J. Zool.**, v.65, p. 2570 - 2573, 1987, *apud* ROTH, D.A., BROOKS, G.A. *Lactate...* 1990a.
- MORONI, F., LEDDA, F., FANTOZZI, R. et al. Effects of histamine and noradrenaline on contractile force of guinea-pig ventricle strips: antagonisms by burimamide and metiamide. **Agents Actions**, v.4, p. 314 - 319, 1974.
- MUCKE, R., JOLLNER, I. Muscle fibre conduction velocity during fatiguing and non-fatiguing isometric arm contractions. **Blom. Biochem. Acta**, v.1, p. 577 - 589, 1986.
- NOAH, J.W., BRAND, A. A fluorimetric method to determine levels of histamine in human plasma. **J. Allergy**, v. 32, p. 236, 1961.
- OKUMURA, K., YASUE, H., MATSUYAMA, K., MATSUYAMA, K., MORIKAMI, Y., OGAWA, H., OBATA, K. Effect of H₁-receptor stimulation on coronary artery diameter in patients with variant angina: comparison with effect of acetylcholine. **J. Am. Coll. Cardiol.** v. 17, p. 338 - 345, 1991.
- OLTMAN, C.L., PARKER, J.L., ADAMS, H.R., LAUGHLIN, M.H. Effects of exercise training on vasomotor reactivity of porcine coronary arteries. **Am. J. Physiol. (Heart Circ. Physiol.)**, v. 32, p. H372 - H382, 1992.

OSTMAN-SMITH, I. Adaptative changes in the sympathetic nervous system in some effector organs of the rat following long term exercise or cold acclimation and the role of cardiac sympathetic nerves in the genesis of compensatory cardiac hipertrophy. **Acta Physiol. Scand.** v. (suppl. 477), p. 1- 40, 1979.

OWEN, T.L., EHRART, I.C., SCOTT, J.B., HADDY, F.J. A comparison of recovery times from exercise and ischemic dilatations at constant pressure an flow. (38953). **Proc. Soc. Exp. Bio.Med.**, v. 149, p. 1040 - 1043, 1975.

OYONO-ENGUELLE, S., MARBACH, J., HEITZ, A., OTT, C., GARTNER, M., PAPE, A., VOLLMER, J.C., FREUND, H. Lactate removal ability and graded exercise in humans. **J. Appl. Physiol.**, v. 68, p. 905 - 911, 1990.

PARSONS, M.E., OWEN, D.A.A, GANELLIN, C.R. et al. Dimaprit - {S-[3-(N,N-dimethylamino) - propyl] - isothiurea} - a highly specific histamine H₂-receptor agonist. **Agents Actions**, v. 7, p. 31 - 37, 1977.

PATON, W. **In: GANELLIN, C.R., PARSONS, M.E. Pharmacology...** 1982.
Foreword.

PAVLIK, G., FRENKL, R., SZPTS, G., MALMOZOKY. Effect of dynamic exercise on the blood histamine level. **Acta Physiol. Acad. Sci. Hung.**, v. 56, p. 66, 1980.

PEARCE, F.L. Biological effects of histamine: an overview. **Agents Actions**, v. 33, n. 1/2, p. 4 - 7, 1991.

PILEGAARD, H., CARSTEN, J., WIBRAND, F. Lactate transport studied in sarcolemmal giant vesicles from rats: effect of training. **Am. J. Physiol.**, v. 264, p. 156 - 160, 1993.

PLISK, S.S. Anaerobic metabolic conditioning: a brief review of theory, strategy and practical application. **J. Appl. Sports Sci. Res.**, v.5, p.22 - 34, 1991.

POULAKOS, J.J., GERTNER, S.B. Studies on the cardiovascular actions of central histamine H₁ and H₂ receptors. **J. Pharm. Exp. Ther.**, v.250, n. 2, p. 500 - 514, 1989.

RASH, P.J., WILSON, D. Other body systems and exercise. **In: FALLS, H.B. Exercise Physiology.** [s.l.]: Academic Press. 1968.

REDLICK, D., GLICK, D. Studies on histochemistry LXXVI. Fluorimetric determination of histamine in microgram samples of tissue samples of tissue or microliter volumes of blood fluids. **Ann. Bloch.**, v. 10, p. 459, 1965.

REICHSTEIN, T., GRUSSNER, A., OPPENHAUER, R. **Helv. Chir. Acta**, v.16, p. 561 - 565, 1933, **apud** HORNIG, D.H. Ascorbic acid ...1988.

REILLY, M.A., SCHAYER, R.W. *In vivo* studies on histamine catabolism and its inhibition. **Br. J. Pharmacol.**, v. 38, p. 478 - 479, 1970.

RENNIE, M.J., WINDER, W.W., HOLLOSZY, J.O. A sparing effect of increased plasma fatty acids on muscle and liver glycogen content in the exercising rat. **Biochem. J.**, v. 156, p. 647 - 655, 1976.

RILEY, J.F., WEST, G.B. The occurrence of histamine in mast cells. **In: ROCHA e SILVA, M.(ed) Handbook of experimental pharmacology.** Berlin: Springer-Verlag, v.18, part 1, pp. 116 - 135, 1966.

ROCHA e SILVA, M., SCROGGIE, A.E., FIDDLAR, E. et al. Liberation of histamine and heparin by peptone from isolated dog's liver. **Proc. Soc. Exp. Biol. Med.**, v. 64, p. 141 - 146, 1947.

ROSE, R.C., NAHRWOLD, D.L. Intestinal ascorbic acid transport following diets of high or low ascorbic acid content. **Int. J. Vitam. Nutr. Res.**, v. 48, p. 382 - 386, 1978.

ROTH, D.A. The sarcolemmal lactate transporter: transmembrane determinants of lactate flux. **Med. Sci. Sports Med.**, v. 23, n.8, p. 925 - 934, 1991.

ROTH, D.A., BROOKS, G.A. Lactate transport is mediated by a membrane - bound carrier in rat skeletal muscle sarcolemmal vesicles. **Arch. Bioch. Bioph.**, v. 279, n. 2, p. 377 - 385, 1990a.

_____. Lactate and pyruvate transport is dominated by a pH gradient - sensitive carrier in rat skeletal muscle sarcolemmal vesicles. **Arch. Bioch. Bioph.**, v. 279, n.2, p. 386 - 394, 1990.

ROUX, W. **Gesammelte Abhandlungen über Entwicklungsmechanik der Organism.** Bd I. Funktionelle Anpassung. Leipzig: W. Engelmann, 1857, **apud MELLEROWICZ, H., MELLER, W. Bases...**, 1979.

ROWELL, L.B. Human cardiovascular adjustments to exercise and thermal stress.

Physiol. Rev. , v.54, p. 75 - 159, 1974.

_____. Reflex control of regional circulations in man. **J. Autonomic Nerv. Sys.**, v. 11, p. 101 - 114, 1984.

_____. Circulatory adjustments to dynamic exercise. In: _____. **Human Circulation**, [s.l.]: Oxford University Press, 1986. pp.213 - 255.

ROWELL, L. B., BRENGELMANN, G. L., BLACKMON, J.R., BRUCE, R.A., MURRAY, J.A. Disparities between aortic and peripheral pulse pressures induced by upright exercise and vasomotor changes in man. **Circulation**, v.37, p. 954 - 964, 1968.

RUGG GAN, M.A. **J. Roy. Naval Med. Serv.**, v.3, p. 199, **apud** BOURNE, G.H. Nutrition and ... 1968.

SALTIN, B. Hemodynamic adaptations to exercise. **Am. J. Cardiol.**, v. 55, p. 42D - 47D, 1985.

SAMPAIO BARROS, M.M. **Dosagem histamínica muscular de ratos exercitados**. Campinas: UNICAMP, 1993. 81p. Dissertação (Mestrado em Biologia - área de Fisiologia) - Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, 1993.

SAYERS, G., SAYERS, M.A. **Am. N. Y. Acad. Sci.**, v. 50, p. 522, 1949, **apud**
 COUTINHO, R. **Noções de fisiologia da nutrição**. 2 ed. Rio de Janeiro: Cultura
 Médica e MEC, 1981, 512 p.

SCHAYER, R.W. Relationship of induced histamine descarboxylase activity and
 histamine synthesis to shock from stress and from endotoxin. **Am. J. Physiol.**,
 v. 168, p. 1187 - 1192, 1960.

_____. Evidence that induced histamine is an intrinsic regulator of the
 microcirculatory system. **Am. J. Physiol.**, v. 202, n. 1, p. 66 - 72, 1962.

SCHAYER, R.W., GANLEY, O.H. Adaptive increase in mammalian histidine
 descarboxylase activity in response to nonspecific stress. **Am. J. Physiol.** v. 197,
 p. 721 - 724, 1959.

SELYE, . A syndrome produced by diverse agents. **Nature**, v. 138, p. 32, 1936.

SHORE, P. A., BURKHALTER, A., COHN, V.H. A method for the
 fluorimetric assay of histamine in tissues. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, v. 127, p.
 182, 1959.

SJORGREEN, N.B., NORDENSJOLD, T., HOLMGREN, H.; WOLLERSTROM,
 J. Beitrag zur Kenntnis des le Berrhythmik. **Pflugers Arch. Gesante Physiol.**
Menschen Tiere, v. 240, p. 247, 1938.

SOARES, J.M.C. Effects of training on muscle pattern: intermitent vs continuous
 exercise. **J. Sports Med. Phys. Fitness**, v. 32, n.2, p. 123 - 7, 1992.

- SOBECKI, G. **Med. Prakt.**, v.13, p. 299, 1939, **apud** BOURNE, G.H. **Nutrition...** 1968.
- SOLL, A.H., LEWIN, K.J., BEAVEN, M.A. Isolation of histamine - containing cells from rat gastric mucosa: biochemical and morphological difference from the mast cell. **Gastroenterology**, v. 80, p. 717 - 727, 1981.
- SUBRAMANIAN, N., NANDI, B.K., MAJUMDER, A.K., CHATERJEE, I.B. Role of L-ascorbic acid on detoxification of histamine. **Biochem. Pharmacol.**, v. 22, p. 1671 - 1673, 1973.
- SUMIDA, K.D., URDIALES, J.H., DONOVAN, C.M. Enhanced gluconeogenesis from lactate in perfused livers after endurance training. **J. Appl. Physiol.**, v. 74, p. 782 - 787, 1983.
- SVIRBELY, J.L., SZENT - GYORGYI, A. **Biochem. J.**, v.26, p. 865 - 870, 1932, **apud** HORNIG, D.H. et al. **Ascorbic acid...**, 1988.
- TAYLOR, A., THAYER, R., RAO, S. Human skeletal glycogen synthetase activities water exercise and training. **Can. J. Physiol. Pharmacol.**, v. 50, p. 411 - 412, 1972.
- TEPPERMAN, J. **Metabolic and endocrine physiology**. Chicago: Year Book Medical Publishers, 1965. 214 p.
- TODA, N. Mechanism of histamine actions in human coronary arteries. **Circ. Res.**, v. 61, p. 280 - 286, 1987.

- TRENDELEMBURG, U. The action of histamine and 5 - hydroxytryptamine on isolated mammalian atria. **Exp. Ther.**, v. 130, p. 450 - 460, 1960.
- TROUT, D. Vitamin C and cardiovascular risk factors. **Am. J. Clin. Nutr.** v. 53, p. 322S - 325S, 1991.
- VAISFIELD, I. L., KASSIL, G.N. **Histamine in biochemistry and physiology.** Moscow: Nauka, 1981.
- VALEN, G., KASZAKI, J., SZABÓ, I. Release of histamine from isolated rat hearts during reperfusion is not dependent on length of ischemic insult, or contents of histamine in cardiac tissues. **Agents Actions**, v. 40, p. 37 - 43, 1993.
- _____. Toxic oxygen metabolites and ischaemia-reperfusion increase histamine synthesis and release in isolated rat heart. **J. Mol. Cell. Cardiol.**, v.25, p. 31 - 40, 1993.
- VEEN - BAIGENT, M.J., TEN CATE, A.R., BRIGHT - SEE, E., RAO, A.V. Effects of ascorbic acid on health parameter in guinea pigs. **Ann. N. Y. Acad. Sci.**, v. 258, p. 339 - 354, 1975.
- WASSERMAM, K., BEAVER, W.L., WHIPP, B.J. Mechanisms and patterns of blood lactate increase during exercise in man. **Med. Sci. Sports Med.**, v.18, p. 344 - 352, 1986.

WERNIS, S.W., LUCCHESI, B.R. Myocardial ischaemia and reperfusion: the role of oxygen radicals in tissue injury. **Cardiovasc. Drugs Ther.**, v. 2, p. 761 - 769, 1989.

WEST, J.B. (ed) BEST, TAYLOR. **As bases fisiológicas da prática médica.** 11 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1989.

WINDAUS, A., VOGT, W. Synthese des imidazolaethylamins. **Ber. dt. Chem. Ges.**, n. 40, p. 3681, 1907, **apud DOUGLAS, W.W. Autacoids...**, 1980.

WINDER, W.W., DUAN, C. Control of fructose 2, 6 - diphosphate in muscle of exercising fasted rats. **Am. J. Physiol.** v. 262, n. 25 (Endocrinol. metab.), p. E919 - E924, 1992.

WOLFF, A.A., LEVI, R. Histamine and cardiac arritmias. **Circ. Res.**, v. 58, n. 1, p. 1 - 16, 1986.

YANG, Z., DIEDRICH, D., SCHNEIDER, K., SIEBENMANN, R., STULZ, P., SEGESSER, L.von, TURINA, M., BUHLER, F.R., LUSCHER, T.F. Endothelium-derived relaxing factor and protection against contractions induced by histamine and serotonin in the human internal mammary artery and in the saphenous vein. **Circulation**, v.80, p. 1041 - 1048, 1989.

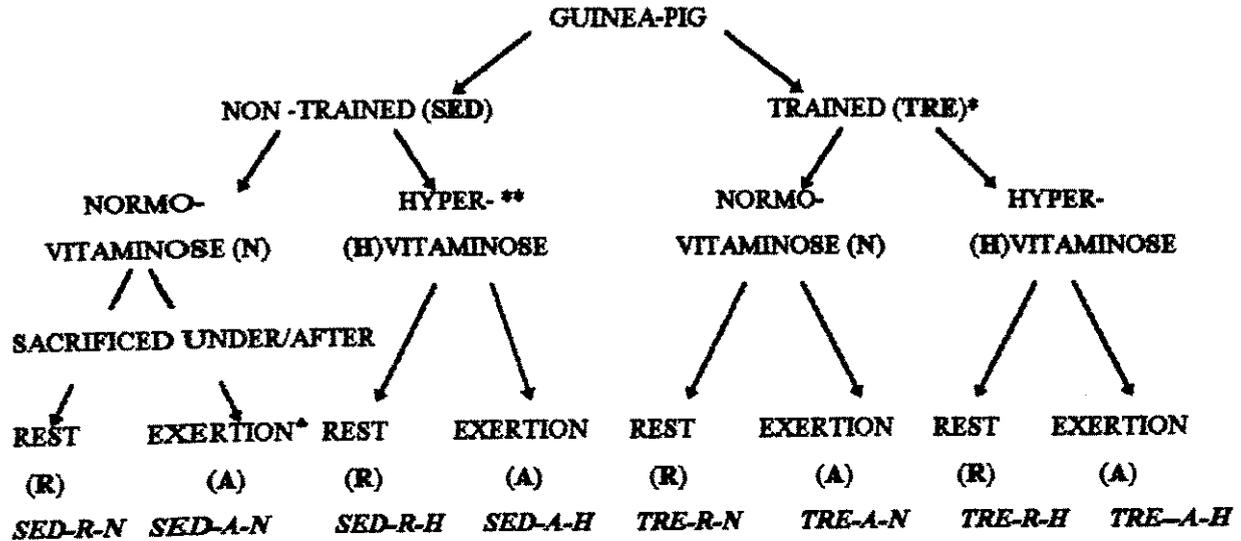
ZAVECZ, J.H., LEVI, R. Histamine-induced negative inotropism: mediation by H₁ - receptors. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, v. 2016, p. 274 - 280, 1978.

ZILVA, S.S **Lancet**, v. 1, p. 478, 1921, **apud** HORNIG, D.H. et al. Ascorbic acid...

1988

ABSTRACT

The effects of acute and chronic (training) physical exercise and ascorbic acid supplementation on biometric and biochemical parameters of female guinea-pigs (*Cavia porcellus*) were studied. For this purpose, 3 month old animals were distributed as exemplified below:



* daily 30min of swimming sections, in a taper water ($34 \pm 1^\circ\text{C}$), for 7 weeks

** daily oral dose of vitamin C [35 mg/Kg body weight]

* acute exercise

At the end of the treatment period the animal were sacrificed by decapitation and ascorbate, glycogen, lactate and histamine levels were determined, and triceps muscle submitted to histological analysis. Our results clearly show: 1. increased ($\cong 65\%$) transseccional area of muscle fibers in the TRE group; 2. increased adrenal gland ascorbate in the SED-R-H (vs SED-R-N) , TRE-R-H (vs TRE-R-N) subgroups; 3. depletion of muscular glycogen in the SED-A-N (vs SED-R-N), SED-A-H (vs SED-R-H) subgroups and of hepatic glycogen in the SED-R-H (vs SED-R-N), SED-A-N (vs SED-R-N) subgroups; 4. reduction in muscular glycogen depletion in the TRE-A-N (vs SED-A-N), TRE-A-N (vs SED-A-H) subgroups; 5.

increased hepatic glycogen in the TRE-R-H (vs SED-R-H) subgroup; 6. increased lactate in the SED-A-N (vs SED-R-N), SED-A-H (vs SED-R-H) subgroups and reduction in lactate increase in the SED-A-H (vs SED-A-N); 7. reduction of lactate in the TRE-A-N (vs SED-A-N), TRE-A-H (vs SED-A-H) subgroups; 8. increased muscular and cardiac histamine in the SED-A-N (vs SED-R-N); SED-A-H (vs SED-R-H), TRE-A-H (vs TRE-R-H) subgroups- the last one, only cardiac histamine; 9. reduction in muscular histamine increase in the TRE-A-N (vs SED-A-N), and cardiac histamine in SED-A-H (vs SED-A-N) subgroups; and 10. decreased cardiac histamine in the SED-R-H (vs SED-R-N) subgroup. We concluded that: A. there was muscle hypertrophy in the trained animals; B. oral supplementation of vitamin C induced an effective hypervitaminose; C. the intensity of acute exercise was sufficient to induce modifications in the metabolic substrates and histamine levels; D. physical training induced greater preservation of hepatic and muscular glycogen and less production of lactate in animals submitted to acute exercise; E. physical training prevented or decreased the elevation of cardiac and muscle histamine in animals submitted to acute exercise; and F. ascorbic acid interfered in the absolute values of some metabolic substrates and of tissular histamine. Finally, we suggest that (i) this physical training protocol is a useful one in order to produce classical physiological adaptations; (ii) physical training by decreasing production and/or liberation of histamine in stress situations like acute exercise, could minimize undesirable effects of this amine, that although seems to have a role in cardiovascular homeostasis, can determine deleterious effects in organism when in excess; and (iii) it would be interesting to amplify the studies about supplementation of vitamin C, using different doses of vitamin and observing the effects on metabolic substrates and other pathways of energetic metabolism and about histamine and its effects in stress situations.