Modalidade do trabalho: Relatório técnico-científico
Evento: VI Mostra de Iniciação Científica Junior

TREINAMENTO AERÓBIO MODERADO DE CURTA DURAÇÃO DIMINUI A CONCENTRAÇÃO DE LACTATO DURANTE TESTE DE ESFORÇO SEM ALTERAR OS NÍVEIS DE GLICOGÊNIO EM RATAS¹

João Schmidt Corso², Analú Bender Do Santos³, Eliane Domanski⁴, Fernanda Giesel Baldissera⁵, Mirna Stela Ludwig⁶, Thiago Gomes Heck⁷

¹ Projeto de pesquisa vinculado a bolsa de iniciação científica, desenvolvido junto ao Grupo de Pesquisa em Fisiologia da Unijui, Departamento de Ciências da Vida.

² Aluno da Escola Técnica Estadual 25 de Julho, Bolsista de Iniciação Científica Ensino Médio-CNPq, Grupo de Pesquisa em Fisiologia-Unijui

³ Grupo de Pesquisa em Fisiologia - GPeF, Mestranda Programa de Pós-Graduação em Atenção Integral a Saúde (PPGAIS) UNIJUI/UNICRUZ

⁴ Bacharel em Educação Física pela Unijui

⁵ Mestre em Ciências da Saúde/UFCSPA, Doutorado em Ciências da Saúde/UFCSPA, Grupo de Pesquisa em Fisiologia (GPeF)/UNIJUI

⁶ Grupo de Pesquisa em Fisiologia (GPeF), Programa de Pós-Graduação em Atenção Integral a Saúde (PPGAIS), Departamento de Ciências da Vida (DCVida), Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul (UNIJUI)

⁷ Grupo de Pesquisa em Fisiologia (GPeF), Programa de Pós-Graduação em Atenção Integral a Saúde (PPGAIS), Departamento de Ciências da Vida (DCVida), Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul (UNIJUI)

INTRODUÇÃO

Há cerca de 50 anos os epidemiologistas estudam a relação das atividades ocupacionais e de lazer com saúde, e uma lista de benefícios têm surgido. Estudos mostram que o hábito da realização de exercícios físicos regularmente traz benefícios para a saúde, tais como melhora no rendimento do metabolismo corporal, diminuição de gordura, além de aumento da força e massa muscular. Também é benéfico para os sistemas cardíaco e respiratório, envolvendo pressão arterial, potência aeróbia e perfil lipídico (SANTARÉM, 1996; SAMULSKY; LUSTOSA, 1996; MATSUDO, 1999). Segundo Sharkey (2006), exercícios físicos trazem benefícios em relação ao condicionamento físico de modo geral, estendendo a duração e a qualidade de vida. As evidências científicas mostram claramente como a atividade física melhora a saúde enquanto reduz o risco de doenças, como a doença arterial coronariana, hipertensão e infarto, bem como alguns tipos de câncer, diabetes, osteoporose, obesidade e outros distúrbios crônicos.

Um dado importante para a prescrição de exercícios é a determinação da intensidade de esforço. A determinação das velocidades atingidas no limiar ventilatório (LV), ponto de compensação respiratório (PCR) e consumo máximo de O₂ (VO₂max), mensurados por teste de esforço máximo, é uma ferramenta importante para a aplicação de intensidades de treinamento específicas e individualizadas (LOURENÇO, 2007). Segundo achados de SVEDENHAG e SEGER (1992), para a organização de sessões de exercício é muito importante o monitoramento da intensidade do esforço, tanto em exercícios aquáticos ou não. Existem vários indicadores fisiológicos que podem ser considerados na quantificação de intensidade do esforço, dentre eles estão os limiares de lactato sanguíneo e dados do metabolismo energético, como o nível de glicogênio muscular.

O lactato é um sal do ácido láctico. Quando o ácido láctico libera íons hidrogênio, o componente remanescente liga-se a íons sódio ou íons potássio para formar um sal. A glicólise anaeróbia produz ácido láctico, mas ele rapidamente se dissocia e o sal lactato é formado. Por esta razão, ambos os termos são utilizados de forma intercambiável. O limiar de lactato é definido como o ponto no qual o lactato sérico começa a acumular além da concentração de repouso durante o exercício de intensidade crescente. Este acúmulo, associado ao acúmulo de íons hidrogênio, reduz o pH muscular, o que compromete os processos celulares que produzem energia e a contração muscular, contribuindo para a fadiga (WILMORE; COSTILL, 2001). A medida que a atividade torna-se mais intensa, a produção de ácido láctico extrapola a capacidade de metabolização intracelular da fibra muscular, passando a difundir em maior quantidade para o sangue. Essa concentração, atingindo determinados patamares (pela própria limitação da capacidade de metabolização do organismo como um todo), pode diminuir drasticamente a duração da atividade e gerar pontos de acúmulo, comumente denominados limiares (FARINATTI; MONTEIRO, 1992). Sendo assim, a identificação de alterações no nível de condicionamento físico está

Modalidade do trabalho: Relatório técnico-científico
Evento: VI Mostra de Iniciação Científica Junior

associada a mudanças no metabolismo energético, as quais permitem a diferenciação entre indivíduos treinados e sedentários (VOLTARELLI et al., 2008). Uma adaptação conhecida do treinamento é a diminuição dos níveis sanguíneos de lactato, aumentando a capacidade de realização de exercícios físicos.

Outro componente relevante para a prática de exercícios físicos é o glicogênio, conceituado como polissacarídeo estocado no tecido animal. O glicogênio é uma macromolécula sintetizada no interior das células por meio de ligações entre centenas a milhares de moléculas de glicose. As células armazenam glicogênio para suprir carboidratos como uma fonte energética. O que importa para o metabolismo do exercício é que o glicogênio é armazenado tanto nas fibras musculares quanto no fígado (POWER; HOWLEY, 2000) e, durante o exercício, as células musculares transformam o glicogênio em glicose (processo denominado glicogenólise) e a utilizam como fonte de energia para a contração. Assim, o glicogênio muscular é a principal fonte glicídica para os músculos ativos nos quais está armazenado. Uma adaptação conhecida do treinamento é o aumento nos níveis musculares de glicogênio, aumentando a capacidade de realização de exercícios físicos. (MCARDLE et al., 1998).

Com base nas considerações relatadas, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do treinamento moderado de curta duração sobre o lactato circulante e o conteúdo de glicogênio muscular em resposta ao teste de esforço.

METODOLOGIA

Animais

Foram utilizados 8 ratos Wistar fêmeas adultos ($229,5 \text{ g} \pm 5,4 \text{ g}$; 90 dias), provenientes do Biotério do DCVida, da UNIJUI. Os animais foram mantidos em gaiolas semi-metabólicas, ambiente com temperatura controlada ($22 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$), umidade relativa do ar entre 50% e 60% e iluminação artificial com ciclos de 12 horas claro/escuro. As ratas receberam ração padronizada para animais de laboratório (Nuvilab CR-1) e água potável ad libitum. Ao final do experimento as ratas foram submetidas ao esfregaço vaginal para identificação do período do ciclo estral, confirmado período adequado para experimentação (estro e metaestro, menores níveis hormonais). Este projeto foi aprovado pelo CEUA da Unijuí (001-2015).

Adaptação ao meio aquoso

Os animais foram submetidos a um período de adaptação ao meio aquoso durante cinco dias consecutivos, dentre 14 e 16 horas. A adaptação consistiu em manter os animais sob natação sem carga por 10 minutos em tanque de vidro ($55 \times 55 \times 56 \text{ cm}$) com 4 espaços individuais iguais ($25 \times 25 \times 56 \text{ cm}$) preenchidos com 45 cm de água a $30 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$, permitindo, assim, a natação individual e simultânea de 4 animais. O procedimento de adaptação tem como objetivo reduzir comportamentos de estresse durante o experimento, mas sem promover adaptações físicas relacionadas ao exercício. Após o período de adaptação os animais foram mantidos isentos de manipulação por 48 h (HECK, 2011).

Teste de Esforço

Todos os animais foram submetidos ao teste de esforço. Este teste foi realizado a partir da mensuração do nível de lactato sanguíneo em repouso (R) e após 5 minutos de natação com as cargas de 0%, 2%, 4%, 6% e 8% do peso corporal do animal, com um intervalo médio de 45 segundos para a aferição de lactato e troca da carga. A aferição do lactato foi realizada por meio de uma única punção na parte distal da cauda do animal, no início da sessão de natação. Desta punção foram coletados, a cada intervalo, 25 μL de sangue para análise em lactímetro (Accutrend® Plus, Roche), sendo o resultado expresso em mmol de lactato por litro de sangue (mmol/L). Foi registrado o tempo total de esforço realizado por cada animal.

Grupos Experimentais e Protocolo de Treinamento

Após o período de adaptação os animais foram divididos em dois grupos: Sedentário (SED, $n = 4$) e Treinado (TRE, $n = 4$). O grupo TRE foi submetido ao treinamento físico de natação (temperatura da água a $30 \text{ }^\circ\text{C} \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$), iniciando com duração de 20 minutos nas primeiras duas semanas (primeira semana com carga equivalente a 2% da massa corporal, e segunda semana com carga equivalente a 4% do peso corporal), sendo acrescidos 10 minutos de exercício a cada semana, até atingir 50 minutos de natação com carga de 4% acoplada à base da cauda, representando intensidade moderada de esforço (HECK, 2011). O grupo SED foi mantido no tanque com 4 centímetros de água durante o mesmo período de tempo. Após 5 semanas de treinamento ou repouso os animais repetiram o teste de esforço.

Extração e Dosagem de Glicogênio

Logo após o teste de esforço pós-treinamento ou repouso, os animais foram mortos por decapitação por meio de guilhotina,

Modalidade do trabalho: Relatório técnico-científico
Evento: VI Mostra de Iniciação Científica Junior

e o músculo gastrocnêmio de ambas patas traseiras foram coletados. Amostras do músculo (cerca de 150 mg) foram utilizadas para dosar glicogênio. O tecido foi colocado em tubo de ensaio com KOH 30% (m/v) e submetido à fervura em água até a dissolução do músculo. As amostras foram suspensas em etanol 70% e colocadas em gelo para precipitação das moléculas de glicogênio. Em seguida foram centrifugadas e os sobrenadantes descartados. Curva padrão de glicogênio (a partir de 1 mg/mL) foi preparada. Às amostras e à curva foi adicionado ácido clorídrico 4 mol/L e aquecidas em banho fervente a 100°C para induzir a hidrólise das moléculas de glicogênio. A solução foi neutralizada com carbonato de sódio 2 mol/L para a dosagem por reagente de cor do kit de glicose, a partir da formação de peróxido de hidrogênio e ácido glicônico por ação da glicose oxidase. Os tubos foram incubados por 10 min a 37°C e, então, efetuadas as leituras em espectrofotômetro a 490. Os valores de glicogênio de cada amostra foram normalizados pela sua divisão com a respectiva massa de tecido.

RESULTADOS

No período pré-treinamento os animais não demonstraram alteração no conteúdo de lactato circulante durante o teste de esforço (Figura 1) e também não houve diferença na área sob a curva $\square$ ASC pré-treinamento (Figura 3). Após 5 semanas, os animais que foram submetidos ao treinamento apresentaram menor conteúdo de lactato sanguíneo durante o teste de esforço quando comparados aos animais sedentários, conforme demonstrado na figura 2 e no cálculo da ASC (Figura 4, $P = 0,04$). Os animais, treinados ou não, não demonstraram diferença na concentração de glicogênio muscular (gastrocnêmio) após o teste de esforço (Figura 5, $P = 0,62$).

Figura 1 $\square$ Lactato sanguíneo durante teste de esforço pré-treinamento. Relação entre a quantidade de lactato no sangue (mmol/L) e a intensidade de esforço realizado (% de carga), $n = 4$ animais por grupo

Modalidade do trabalho: Relatório técnico-científico
Evento: VI Mostra de Iniciação Científica Junior

Figura 2 □ Lactato sanguíneo durante teste de esforço pós-treinamento ou repouso. Relação entre a quantidade de lactato no sangue (mmol/L) e a intensidade de esforço realizado (% de carga), n = 4 animais por grupo

Figura 3 □ Área sob a curva de lactato sanguíneo durante teste de esforço pré-treinamento. Dados expressos em Unidades de área, n = 4 animais por grupo, * P < 0,05, teste estatístico t de Student

Modalidade do trabalho: Relatório técnico-científico
Evento: VI Mostra de Iniciação Científica Junior

Figura 4 □ Área sob a curva de lactato sanguíneo durante teste de esforço pós-treinamento ou repouso. Dados expressos em Unidades de área, n = 4 animais por grupo, * P < 0,05, teste estatístico t de Student

Figura 5. Conteúdo de glicogênio muscular (gastrocnêmio) após treinamento ou repouso e teste de esforço. Dados expressos em mg de glicogênio/g de tecido fresco, n = 4 animais por grupo, teste estatístico t de Student

Modalidade do trabalho: Relatório técnico-científico
Evento: VI Mostra de Iniciação Científica Junior

DISCUSSÃO

Neste estudo encontramos uma melhor resposta ao esforço quanto aos níveis de lactato sanguíneo nos animais que realizaram treinamento aeróbico de curto prazo sob intensidade moderada. O mesmo também foi encontrado em animais sob treinamento de baixa intensidade (sem sobrecarga), em sessões de 30 min, 5 vezes por semana, por 6 semanas, os quais demonstraram níveis de lactato sanguíneo menores que os animais sedentários (Freitas et al., 2010). Isto ocorre, possivelmente, porque a remoção do lactato após o período de treinamento é realizada de forma mais eficiente, resultando na diminuição da acidose das células e do sangue, garantindo um tempo maior de atividade muscular antes de ocasionar a fadiga. Estes achados sugerem que sob intensidade moderada, e até mesmo sob baixa intensidade, o treinamento aeróbico proporciona adaptações positivas no metabolismo do organismo.

O protocolo de treinamento utilizado neste estudo, com 4% de carga, 50 min ao dia, 5 dias na semana, por 5 semanas, não foi suficiente para resultar em um aumento de glicogênio muscular logo após esforço máximo. Na pesquisa desenvolvida por Figueira et al. (2007) os ratos foram submetidos à natação com sobrecarga de 5% da massa corporal, 1 h por dia (5 vezes por semana), durante 4 semanas, não surtindo diferença nos níveis de glicogênio hepático e do músculo sóleo entre os animais treinados e sedentários. Assim, podemos sugerir que o treinamento moderado a curto prazo, tanto sob 4% quanto sob 5% de carga, não aumenta o estoque de glicogênio muscular após esforço intenso. Desta forma, acreditamos que para aumentar a concentração de glicogênio muscular após esforço seria necessário treinamento intenso, visto que o glicogênio sofre uma maior depleção no exercício intenso, com maior supercompensação. Quando um indivíduo é submetido a um treinamento no qual gasta mais glicogênio, conseqüentemente irá adaptar seu metabolismo a aumentar o estoque desta reserva energética, com o objetivo de atingir a demanda de exercício por mais tempo e na mesma intensidade (POWER; HOWLEY, 2000).

CONCLUSÃO

Os animais submetidos ao treinamento aeróbico moderado a curto prazo, quando comparados aos animais sedentários, apresentaram menor concentração de lactato sanguíneo após teste de esforço, e assim conseguiram realizar o exercício sob maior intensidade e por mais tempo. Por outro lado, essa melhor performance não foi associada ao aumento do estoque de glicogênio muscular (gastrocnêmio). Estes dados indicam que o protocolo de treinamento proposto leva a uma adaptação no organismo dos animais e que o teste de esforço é eficaz para diferenciar animais treinados de sedentários.

REFERÊNCIAS

- FARINATTI, P.T.V.; MONTEIRO, W.D. Fisiologia e avaliação funcional. Rio de Janeiro, Sprint, 1992.
- FIGUEIRA; T.R., et al. Efeito do treinamento aeróbico sobre o conteúdo muscular de triglicérides e glicogênio em ratos. Revista Brasileira de Ciência e Movimento, 2007.
- FREITAS; J.S. et al. Treinamento aeróbico em natação melhora a resposta de parâmetros metabólicos de ratos durante teste de esforço. Revista Brasileira de Medicina do Esporte, volume 16, no 2. Niterói, Mar./Abr. 2010.
- HECK, T. G. Razão Entre o Conteúdo Extracelular e Intracelular de HSP70 como um Sinal de Alerta Imunológico e Marcador de Intensidade de Exercício. (Doutorado). Programa de Pós Graduação em Ciências do Movimento Humano, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2011.
- LOURENÇO, T.F. Interpretação metabólica dos parâmetros ventilatórios obtidos durante um teste de esforço máximo e sua aplicabilidade no esporte. Revista Brasileira de Cineantropometria & Desempenho Humano. Campinas-SP; p.310-317, abril, 2007.
- MATSUO, V.K.R. Vida ativa para o novo milênio. Revista e Oxidologia, p.1824, set/out 1999.
- MCARDLE, W.D. et al. Fisiologia do Exercício Energia, Nutrição e Desempenho Humano. 4a edição. Editora Guanabara Koogan. 1998.
- POWER, S.K.; HOWLEY E.T., Fisiologia do Exercício. 3a edição. Barueri-SP. Editora Manole Ltda, 2000.
- SAMULSKY, D.; LUSTOSA, L.A. A importância a atividade física para a saúde e a qualidade e vida. ARTUS Revista Educação Física e Desportos, v.17, n.1, p.60-70, 1996.
- SANTAREM, J. M. Atividade Física e Saúde, Acta Fisiátrica, v.3, n.1, p.37-39, 1996.
- SHARKEY, J. Brian. Condicionamento físico e saúde. 5a edição. Porto Alegre: Artmed Editora S.A., 2006.
- SVEDENHAG J, SEGER J. Running on land and in water: comparative exercise physiology. Med Sci Sports Exerc 1992.
- VOLTARELLI, F. A., C. A. GOBATTO, et al. Minimum Blood Lactate and Muscle Protein of Rats During Swimming Exercise.

Modalidade do trabalho: Relatório técnico-científico
Evento: VI Mostra de Iniciação Científica Junior

Biology of Sport. UNESP, São Paulo State University, Brazil. 25: 23-34 p. 2008.

WILMORE, J.H.; COSTILL, D.L. Fisiologia do Esporte e do Exercício, São Paulo, Ed. Manole, 2a edição, 2001.