

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS  
ESCOLA SUPERIOR DE EDUCAÇÃO FÍSICA  
Curso de Mestrado em Educação Física



## **DISSERTAÇÃO**

Dano oxidativo e atividade imunológica de ratos  
treinados, suplementados com maltodextrina

**Cátia Fernandes Leite**

Pelotas, RS - Brasil

2011

**CÁTIA FERNANDES LEITE**

**DANO OXIDATIVO E ATIVIDADE IMUNOLÓGICA DE RATOS  
TREINADOS, SUPLEMENTADOS COM MALTODEXTRINA**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado em Educação Física da Universidade Federal de Pelotas, para obtenção do título de Mestre em Educação Física.

**Orientador:** Prof. Dr. Airton José Rombaldi

**Co-orientadora:** Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Cláudia Pinho Hartleben

Pelotas, RS - Brasil

2011

Dados de catalogação Internacional na fonte:  
(Bibliotecária Patrícia de Borba Pereira CRB10/1487)

L533d Leite, Cátia Fernandes

Dano oxidativo e atividade imunológica de ratos treinados, suplementados com maltodextrina / Cátia Fernandes Leite ; orientador Airton José Rombaldi; co-orientador Claudia Pinho Hartleben – Pelotas : UFPel : ESEF, 2011.

100 p. : il.

Dissertação (Mestrado) Programa de Pós-Graduação em Educação Física. Escola Superior de Educação Física. Universidade Federal de Pelotas. Pelotas, 2011.

1. Estresse oxidativo 2. Fadiga 3. Leucócitos 4. Ratos Wistar I. Título II. Rombaldi, Airton José III. Hartleben, Claudia Pinho

CDD 155.412

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado em Educação Física da  
Universidade Federal de Pelotas para obtenção do título de Mestre

**Banca examinadora:**

Prof. Dr. Airton José Rombaldi (orientador) – ESEF/UFPeI

Prof. Dr. Marlos Rodrigues Domingues – ESEF/UFPeI

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maria Ester Pereira – PPGBTOX/UFMS

Prof. Dr. Marcelo Cozzensa da Silva – ESEF/UFPeI

Pelotas, 24 de março de 2011

## **DEDICATÓRIA**

Dedico este estudo as principais pessoas que fizeram parte desta caminhada incentivando e acreditando na minha capacidade de realização deste trabalho, aos sobrinhos: **Lucas, Kauã e Karina**; aos meus pais: **Irone e Tânia**; aos meus irmãos **Antônio, Alessandra, Janaina e Viviane**; e

Ao grande gigante que muito mais do que eu quis e acreditou na concretização deste trabalho:

**Prof. Dr. Airton José Rombaldi.**

## AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha família, aos amigos, aos professores, aos alunos e aos funcionários da ESEF/UFPel que ao longo destes dois anos apostaram e incentivaram meu crescimento intelectual e profissional, e em especial:

Aos professores Dr. Fábio Leivas Leite, Dra. Cláudia Pinho Hartleben, Dra. Marta Amaral e ao Médico Veterinário Milton de Oliveira Amado por tudo que fizeram e investiram na concretização deste trabalho. Agradeço por tudo que aprendi com estes profissionais.

A professora Dra. Valdelaíne da Rosa Mendes e a Mestre Ecléa Vanessa Canei Baccin agradeço por terem me incentivado a lutar por meus direitos e a não abandonar este estudo em um dos momentos mais difícil que enfrentei.

Aos secretários do Curso de Mestrado em Educação Física, Tiago, Hélio e Bruna pela ajuda em cada momento que se fez necessário.

Aos amigos que me acompanharam durante esta trajetória: Luciane Goulart da Silva, Marcio Neres dos Santos, Gabriela Nilson e Galeno Parrela Criscolo.

Aos alunos de Pós-Graduação em Bioquímica Toxicológica da Universidade Federal de Santa Maria por tudo que me foi cedido, ensinado e por muitas vezes re-ensinado. Sem o apoio de vocês as análises de glicogênio e dano oxidativo não teriam sido realizadas com êxito: Jeandre Jaques, Lucélia Silva e Rafael Porto Ineu.

A professora Dra. Maria Ester Pereira pelas dicas e possibilidades de aprendizado com seus alunos de pós-graduação.

A Deus pela **Serenidade, Coragem e Sabedoria** durante este percurso.

A CAPES pela bolsa de estudo concedida.

Conceda-nos Senhor, **Serenidade** necessária para aceitar as coisas que não podemos modificar, **Coragem** para modificar aquelas que podemos e **Sabedoria** para distinguir umas das outras.

Autor Desconhecido

“Se eu vi mais longe, foi por estar  
de pé sobre ombros de gigantes”

Isaac Newton

## SUMÁRIO

	Página
1. Apresentação.....	08
2. Projeto de pesquisa.....	09
3. Relatório da coleta de dados realizada no Laboratório de Bioquímica e Fisiologia do Exercício da ESEF/UFPel (LABFex).....	55
4. Artigo: Dano oxidativo e atividade imunológica de ratos treinados, suplementados com maltodextrina.....	64
5. Comunicado à imprensa.....	87
6. Apêndice.....	89
7. Anexos.....	91

## APRESENTAÇÃO

A presente dissertação de mestrado, exigência para obtenção do título de mestre, pelo Curso de Mestrado em Educação Física da Universidade Federal de Pelotas, é composta pelos seguintes itens:

- 1) Projeto de Pesquisa (apresentado e defendido em 1º de setembro de 2009) com incorporação das sugestões dos revisores, Professores Dr. Marlos Rodrigues Domingues e Dra. Maria Ester Pereira;
- 2) Relatório da coleta de dados realizada no Laboratório de Bioquímica e Fisiologia do Exercício da ESEF/UFPel (LABFex);
- 3) Artigo: “Dano oxidativo e atividade imunológica de ratos treinados, suplementados com maltodextrina”, o qual servirá de base para os pareceres da banca. Após apreciação dos mesmos, será submetido à Revista Brasileira de Medicina do Esporte;
- 4) Comunicado à imprensa, com os principais achados para a imprensa local;
- 5) Apêndice.
- 6) Anexos utilizados no trabalho.

# **PROJETO DE PESQUISA**

**Mestranda: Cátia Fernandes Leite**

**Orientador: Dr. Airton José Rombaldi**

## RESUMO

LEITE, Cátia Fernandes. **Dano oxidativo e atividade imunológica de ratos treinados, suplementados com maltodextrina.** 2011. 54f. Projeto de Pesquisa (Mestrado) – Curso de Mestrado em Educação Física. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas/RS.

**Introdução:** A fadiga pode ser causada pela acidose metabólica, a depleção de substratos e a ação das espécies reativas de oxigênio (EROs). A hipoglicemia, por exemplo, também resulta em imunossupressão. Sendo o carboidrato um nutriente importante para retardar a acidose metabólica, melhorar o desempenho esportivo, minimizar a queda na atividade imunológica e reduzir a ocorrência de estresse oxidativo, além de haver uma escassez de estudos nesta área se reforçam a necessidade de novos estudos. **Objetivo:** verificar a ocorrência de dano oxidativo e alterações nas concentrações de leucócitos sanguíneos em ratos treinados e suplementados ou não com maltodextrina. **Materiais e Métodos:** Ratos machos (69 no total), Wistar, com 60 dias serão divididos em seis grupos experimentais: SN (sedentário não suplementado, n=12), SS (sedentário suplementado, n=12), TEN (treinado em EEML - Estado Estável Máximo de Lactato - não suplementado, n=11), TES (treinado em EEML suplementado, n=11), TAN (treinado em alta intensidade não suplementado, n=12) e TAS (treinado em alta intensidade suplementado, n=11). O protocolo de treinamento consistirá de oito semanas de exercícios de natação em padrão contínuo em EEML ( $60\text{min}\cdot\text{dia}^{-1}$ ) ou intermitente (2 períodos de 30min, com intervalo de 10min), com sobrecargas correspondentes a 5% e 10% do peso corporal, respectivamente. Os animais serão suplementados por oito semanas com uma dose diária de  $0,48\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  de maltodextrina dissolvida em água ou receberão somente água pura. As concentrações de lactato sanguíneo, conteúdo de glicogênio hepático e muscular, peroxidação lipídica através de TBARS, oxidação de proteínas e contagem total e diferencial de leucócitos serão analisadas.

**Palavras-chave:** condicionamento, fadiga muscular, células brancas, estresse oxidativo, ratos Wistar.

## LISTA DE FIGURAS, TABELA E QUADROS

	Página
Figura 01. Ação da creatinacinase na síntese de ATP.....	22
Figura 02. Locais de dano oxidativo.....	25
Figura 03. Relação entre exercício, dano muscular e dor muscular de início tardio..	26
Figura 04. Hidrólise do ATP pela ATPase e a formação de H <sup>+</sup> .....	27
Figura 05. Tamponamento temporário de H <sup>+</sup> pelo lactato.....	27
Figura 06. Diferenças na concentração de lactato e prótons.....	28
Figura 07. "Crossover point".....	30
Tabela 01. Osmolaridade de alguns CHOs em solução.....	32
Quadro 01. Resumo do protocolo de treinamento e suplementação.....	39
Quadro 02. Delineamento experimental do estudo.....	40
Quadro 03. Cronograma de atividades.....	46

## LISTA DE ABREVIATURAS

- ADP: adenosina difosfato
- AGLs: ácidos graxos livres
- ATP: adenosina trifosfato
- cAMP: adenosina monofosfato cíclico
- CD: cluster differentiation
- CEEA: Comissão de Ética em Experimentação Animal
- CHOs: carboidratos
- COBEA: Comitê Brasileiro de Experimentação Animal
- Cr: creatina
- DNA: ácido desoxirribonucléico
- DNPH: 2,4 dinitrofenilhidrazina
- EEML: Estado Estável Máximo de Lactato
- EROs: espécies reativas de oxigênio
- ESEF: Escola Superior de Educação Física
- H<sup>+</sup>: prótons de hidrogênio
- HCl: ácido clorídrico
- IgA: imunoglobulina A
- IgG: imunoglobulina G
- IgM: imunoglobulina M
- IL-6: interleucina 6
- IL-8: interleucina 8
- I<sub>2</sub>: iodo metálico
- KI: iodeto de potássio
- KOH: hidróxido de potássio
- MDA: malondialdeído
- m/v: massa/volume
- mg/kg/v: miligrama/quilograma/peso vivo
- NK: Natural Killer
- (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>: sulfato de amônio
- PCr: creatina fosfato

- pH: potencial hidrogeniônico
- Pi: fosfato inorgânico
- RNA: ácido ribonucleico
- SBCAL: Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório
- SDS: lauril sulfato de sódio
- TBARS: espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico
- TCA: ácido tricloro acético
- UFPel: Universidade Federal de Pelotas
- $V_{max}$ : velocidade máxima
- $VO_{2max}$ : consumo máximo de oxigênio
- $VO_{2pico}$ : consumo de oxigênio de pico

## SUMÁRIO

Página

RESUMO.....	10
LISTA DE FIGURAS, TABELAS E QUADROS.....	11
LISTA DE ABREVIATURAS.....	12
<b>INTRODUÇÃO</b> .....	16
1.1. Identificação do problema.....	16
1.2. Objetivos.....	17
1.2.1. Geral.....	17
1.2.2. Específicos.....	17
1.3. Hipóteses de trabalho.....	18
1.4. Justificativa e relevância do estudo.....	18
1.5. Definição de termos.....	19
1.6. Definição das variáveis.....	20
1.6.1. Variáveis independentes.....	20
1.6.2. Variáveis dependentes.....	20
1.6.3. Variáveis de controle.....	20
<b>REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	21
2.1. Metabolismo energético no músculo em contração.....	21
2.2. Bioquímica muscular: formação de espécies reativas de oxigênio.....	23
2.3. Contração muscular e danos tissulares.....	24
2.4. Metabolismo intermediário: formação da acidose metabólica.....	26
2.5. Interferência da intensidade do exercício sobre a utilização de glicogênio/glicose.....	28
2.6. Suplementação para atletas.....	30
2.7. Aspectos imunológicos associados à reposição de carboidratos.....	32
2.8. Aspectos imunológicos associados ao exercício físico.....	33
2.8.1. Resposta imunológica de atletas ao exercício físico.....	34
<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	37
3.1. Animais.....	37
3.2. Protocolo de suplementação.....	38
3.3. Protocolo de treinamento.....	38
3.4. Exercício de exaustão.....	40

3.5. Delineamento experimental do estudo.....	40
3.6. Procedimentos e métodos de eutanásia.....	42
3.7. Coleta e análise do material.....	42
3.7.1. Obtenção das amostras de sangue.....	42
3.7.2. Obtenção das amostras de tecido hepático e muscular.....	43
3.7.3. Determinações bioquímicas.....	43
3.7.3.1. Dano oxidativo.....	43
3.7.3.1.1. Peroxidação lipídica: Dosagem de MDA.....	43
3.7.3.1.2. Dosagem de proteína carbonil.....	43
3.7.3.2. Determinação do conteúdo de proteínas.....	44
3.7.3.3. Concentração de lactato sanguíneo.....	44
3.7.3.4. Conteúdo de glicogênio hepático e muscular.....	44
3.7.4. Determinação imunológica.....	45
3.7.4.1. Contagem total e diferencial de leucócitos.....	45
3.8. Análise estatística.....	45
<b>CRONOGRAMA DE ATIVIDADES.....</b>	<b>46</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>47</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>91</b>

## INTRODUÇÃO

### 1.1. Identificação do problema

A fadiga é causada por complexas modificações metabólicas que ocorrem dentro do músculo esquelético durante o exercício. Estas mudanças variam dependendo do padrão e duração do recrutamento muscular e podem incluir, entre outros fatores, a acidose metabólica e a depleção de substratos (FERREIRA; REID, 2008). A ação das espécies reativas de oxigênio (EROs), cujo acúmulo deriva do músculo em contração, em conjunto com outras perturbações, também, promovem a fadiga (FERREIRA; REID, 2008).

Existe uma forte associação entre a queda dos estoques intramusculares de glicogênio e o aumento na concentração de EROs na indução da fadiga muscular (SILVEIRA et al., 2008). Em decorrência deste fato, os radicais livres produzidos durante o exercício representam um importante papel na indução e propagação da inflamação pós-exercício que pode aumentar as lesões celulares (FINAUD; LAC; FILAIRE, 2006). A hipoglicemia ocasionada durante o exercício, também, resulta em elevada resposta ao estresse e uma associada imunossupressão (CLOSE et al., 2005). Além disso, o atleta que se exercita em estado hipoglicêmico tem maior perturbação em vários aspectos da função imunológica (GLEESON; NIEMAN; PEDERSEN, 2004).

Assim sendo, um dos principais motivos para se fazer uso de suplementação carboidratada se apóia na influência do carboidrato (CHO) sobre as células de defesa que provavelmente esteja relacionada com supressão transitória da função imune, potencializando os efeitos adversos sobre a distribuição celular das células imunológicas observada em exercício intenso (BRAUN; VON DUVILLARD, 2004). O consumo de uma solução carboidratada durante o treinamento, também, é recomendado para atenuar alguns dos efeitos imunossupressivos do exercício prolongado (GLEESON ; NIEMAN; PEDERSEN, 2004). Para tanto, suplementações com maltodextrina são desejáveis, pois a principal vantagem da maltodextrina em relação aos monos e dissacarídeos para inclusão em soluções esportivas, é que ela não tem gosto adocicado e sua palatabilidade é mais bem aceita do que soluções

com outras fontes de CHO que são mais doces (ROMBALDI e SAMPEDRO, 2001). A maltodextrina, também é um polímero que normalmente provoca uma alta resposta glicêmica (WOLF et al., 2003) e por ser um CHO complexo é assimilado mais lentamente que os monossacarídeos (ROMBALDI e SAMPEDRO, 2001), ou seja, ela é metabolizada de forma mais lenta e constante no organismo e com gradual liberação de glicose para o sangue.

Diante do exposto, sendo o CHO um nutriente importante para retardar a acidose metabólica, melhorar o desempenho esportivo e minimizar a queda na atividade imunológica e como poucos são os estudos que associam tais variáveis com dano oxidativo acarretado pelas EROs, este trabalho propõe como problema de pesquisa a seguinte questão:

**Quais as alterações produzidas no dano oxidativo e na contagem total e diferencial de leucócitos em ratos treinados sob carga de Estado Estável Máximo de Lactato (EEML) ou de alta intensidade, suplementados ou não com maltodextrina?**

## **1.2. Objetivos**

### **1.2.1. Geral**

Verificar dano oxidativo e atividade imunológica em ratos submetidos a exercício aeróbico em EEML ou de alta intensidade e as diferenças proporcionadas pelo uso ou não de solução carboidratada por estes animais.

### **1.2.2. Específicos**

Determinar as alterações produzidas em ratos Wistar treinados sob cargas de EEML ou de alta intensidade e suplementados ou não com maltodextrina a 12% (m/v) sobre:

- a) peroxidação lipídica através da medida de espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico - TBARS (concentração de malondialdeído - MDA);
- b) concentração de proteína carbonil;
- c) concentração de lactato sanguíneo;
- d) conteúdo de glicogênio hepático e muscular; e
- e) contagem total e diferencial de leucócitos.

### **1.3. Hipóteses de trabalho**

O aumento da carga de treinamento resultará em maior dano tecidual. Por outro lado, a suplementação carboidratada com maltodextrina proporcionará uma diminuição no dano e menor alteração da imunidade, bem como em maiores níveis de lactato sanguíneo no exercício sob carga de alta intensidade decorrente do maior tempo em atividade e níveis mais elevados de glicogênio hepático e muscular.

### **1.4. Justificativa e relevância do estudo**

O maior efeito do exercício físico produzido sobre o corpo é o processo de adaptação. Os efeitos adaptativos do exercício regular são sistêmicos e dependem das características do programa de treinamento (RADAK et al., 2008).

Normalmente, a carga de treinamento se refere à dosagem para a qual os atletas estão expostos. Tal dosagem ocorre em função da intensidade, frequência e volume do treinamento. Tipicamente os atletas têm sua carga ajustada e modificada baseada na sua periodização do plano de treinamento (HACKNEY; BATTAGLINI, 2007).

Para que haja a adaptação é necessário atingir certo nível de estresse físico. Baixo nível de sobrecarga imposta pelo exercício pode ser efetivo em casos de baixo nível de aptidão física, mas para indivíduos bem treinados um alto nível de estresse é obrigatório (RADAK et al., 2008). Entretanto, o exercício físico de alta intensidade pode causar doenças, lesões e fadiga crônica que podem conduzir a síndrome de “overtraining” (FINAUD; LAC; FILAIRE, 2006).

Em contraste ao exercício moderado, o esforço físico intenso pode causar várias mudanças na imunidade que refletem o estresse psicológico e a supressão destas células (MOREIRA et al., 2007). Além disso, a participação de atletas em programas de treinamento de alta intensidade pode elevar o risco de maiores transtornos na sua imunocompetência (AOI; NAITO; YOSHIKAWA, 2006). Todavia, há poucas informações se o exercício regular, acima de determinada intensidade ou duração seria prejudicial à saúde. Desta forma, é de interesse científico identificar a carga de treinamento que aumenta certas funções fisiológicas que tem um significativo efeito preventivo contra algumas doenças e que não causam acúmulo de dano oxidativo (OGONOVSKY et al., 2005) e outras lesões celulares subsequentes.

A relevância deste estudo apóia-se na necessidade de novas pesquisas para avaliar o efeito do treinamento permanente sobre células imunológicas, pois ainda não há um consenso na literatura sobre a carga de treinamento que possa acarretar queda na atividade imune. Também se reforça a importância na utilização de solução esportiva carboidratada antes, durante e após a execução do esforço físico. Pois, apesar de haver vários estudos que avaliaram o uso de suplementações carboidratadas sobre diversas subpopulações de células imunológicas, como os realizados por Carlson et al., 2008; Cox et al., 2008; Timmons; Tarnopolsky e Bar-Or, 2006 e Nieman et al., 2004, ainda não há informações conclusivas sobre qual o tipo de carboidrato e concentração que melhor influenciaria na concentração sanguínea destas células. Além disso, conforme Silveira et al. (2008) ainda existe a possibilidade de a suplementação carboidratada reduzir a ocorrência de estresse oxidativo decorrente do exercício físico. Neste sentido, havendo uma escassez de estudos que associem dano oxidativo e concentração de leucócitos decorrentes do esforço físico com o uso de suplementações carboidratadas se reforça a necessidade de estudos nesta área. Desta maneira, este trabalho propõe-se a avaliar dano oxidativo e atividade imunológica de ratos Wistar treinados sob cargas de EEML ou de alta intensidade e as diferenças proporcionadas pelo uso ou não de solução carboidratada por estes animais.

### **1.5. Definição de termos**

O termo referido neste estudo, “**Estado Estável Máximo de Lactato**”, ou como alguns autores o preferem chamar, Máxima Fase Estável de Lactato Sanguíneo é definido como a maior intensidade de exercício de carga constante onde ainda é observada estabilidade na concentração sanguínea de lactato (GRECO et al., 2010). Seres humanos apresentam o EEML a uma concentração fixa de lactato sanguíneo de 4mmol/L. Em animais de laboratório, como ratos da linhagem Wistar, esta terminologia adota como princípio a forma do exercício empregada podendo variar a carga de treinamento. Gobatto et al. (2001) realizaram um estudo para determinar o EEML de ratos sedentários com 90 dias no começo do experimento e submetidos a exercício de natação. Os autores obtiveram o EEML destes animais em 5,5mmol/L de lactato sanguíneo com sobrecargas de 5 e 6% do peso corporal. Neste estudo se adotará a sobrecarga de 5% do peso corporal para a carga correspondente ao EEML.

## **1.6. Definição das variáveis**

### **1.6.1. Variáveis independentes**

As variáveis independentes deste estudo são:

a) Suplementação (solução carboidratada ou água): a solução com 12% (m/v) de maltodextrina ou água pura, será introduzida via tubo gástrico (“gavage”) para o interior do estômago dos ratos, antes de iniciar a natação e após, um prévio aquecimento dos animais em meio líquido durante 2 minutos. Os animais não suplementados receberão somente água pura utilizando-se a mesma técnica e nos mesmos momentos dos grupos suplementados. Os animais em repouso ingerirão suas quotas de CHO ou água pura nos mesmos períodos de tempo;

b) Exercício/repouso: os animais realizarão exercícios de natação sob cargas de EEML ou de alta intensidade ou permanecerão em repouso (banho de imersão, ver materiais e métodos).

### **1.6.2. Variáveis dependentes**

- a) peroxidação lipídica através da medida de TBARS (MDA);
- b) concentração de proteína carbonil;
- c) concentração de lactato sanguíneo;
- d) conteúdo de glicogênio hepático e muscular; e
- e) contagem total e diferencial de leucócitos.

### **1.6.3. Variáveis de controle**

- a) idade, raça, sexo e a alimentação dos animais em estudo.

## REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. Metabolismo energético no músculo em contração

O organismo humano obtém energia para a realização do trabalho biológico a partir dos nutrientes ingeridos na alimentação. A energia química advinda dos nutrientes é transformada em mecânica para realização da contração muscular. O adenosina trifosfato (ATP) é o intermediário químico comum usado para potencializar as contrações musculares e outras formas de trabalho celular (BROOKS et al., 1999).

O metabolismo produz a energia necessária para o corpo. A fonte de energia imediata para o trabalho biológico é o ATP, sendo que, a quantidade de ATP estocada no músculo é limitada, este tecido necessitará de um fornecimento contínuo de energia durante exercício anaeróbio e aeróbio (ILHAN et al., 2004).

No exercício com duração aproximada de 10seg, o principal substrato a ser utilizado predominantemente vem do sistema creatina fosfato (ATP-CP) (LAPIN et al., 2007). De acordo com Hoffman et al. (2008), a creatina é um aminoácido derivado da arginina, glicina e metionina e sintetizado pelo fígado, rins e pâncreas. A creatina (Cr) é um importante reservatório de energia para a contração muscular, pois cerca de, 95% da creatina corporal são armazenados no músculo esquelético sob a forma livre e fosforilada (como creatina fosfato – PCr). Quando a demanda por energia aumenta, a PCr fornece o fosfato para o adenosina difosfato (ADP) com a finalidade de sintetizar ATP, esse tipo de reação ocorre rápido e resulta em energia para exercícios físicos de alta intensidade e curta duração (COSTALLAT et al., 2007), (figura 1).

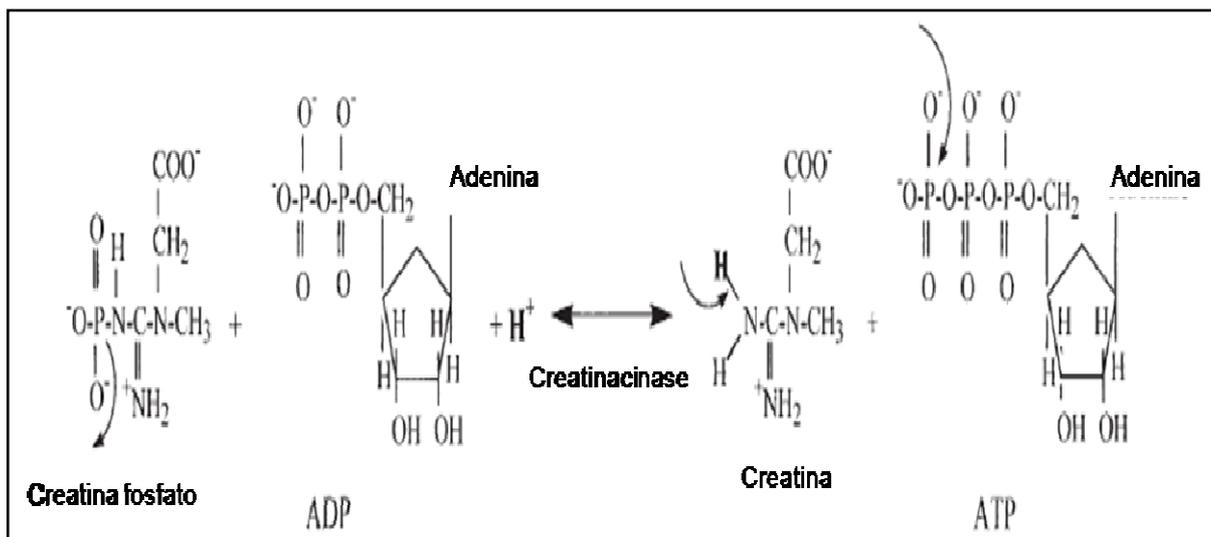


Figura 01. Ação da creatinacina na síntese de ATP.

Fonte: ROBERGS; GHIASVAND; PARKER, 2004, p.505.

Nos exercícios intensos com duração superior a 10seg a produção de ATP dependerá predominantemente do sistema glicolítico (LAPIN et al., 2007). A musculatura esquelética e o fígado constituem os principais órgãos de armazenamento de glicogênio, embora no fígado haja uma maior concentração desse composto (até 6%), as reservas são maiores, em termos absolutos, na musculatura esquelética (LIMA-SILVA et al., 2007). Entretanto, o estoque corporal de carboidratos é limitado e seu excesso advindo do consumo alimentar é estocado como gordura (SAHLIN et al., 2008).

Os lipídeos são moléculas altamente energéticas, fornecendo 9Kcal/g, estocados nos adipócitos e músculos, fazendo com que sejam mais eficientes quanto ao estoque energético por unidade de peso do que o glicogênio (ANDRADE; RIBEIRO; CARMO, 2006). Porém, níveis elevados de lactato podem estar relacionados a um aumento do alfa-glicerolfosfato, forma ativada do glicerol necessário para a produção de triglicerídeos, dificultando a liberação de ácidos graxos livres (AGLs) para o fornecimento de ATP (POWERS; HOWLEY, 2005). Neste caso, os AGLs formados na hidrólise dos triglicerídeos podem sofrer reesterificação se associando a uma molécula de glicerol-3-fosfato, formando novos triacilgliceróis nos adipócitos (ANDRADE; RIBEIRO; CARMO, 2006).

Os aminoácidos executam um papel fundamental durante o metabolismo intenso quando os níveis de glicose sérica diminuem e os estoques de glicogênio são depletados. A alanina e a glutamina, por exemplo, carregam a amônia resultante da

desaminação de outros aminoácidos para o fígado e rins, evitando que os músculos acumulem esse composto tóxico (GARCIA; PITHON-CURI; CURI, 2000). Esses mesmos aminoácidos são reutilizados para produzirem glicose pela gliconeogênese. A alanina, por exemplo, é transportada via corrente sanguínea para o fígado, onde é transaminada de volta a piruvato, que é um precursor da glicose, esse processo é chamado de ciclo da glicose-alanina (VOET; VOET, 2006). Este ciclo depende da gliconeogênese no fígado, seguida pela liberação de glicose por este tecido e sua utilização em tecidos periféricos havendo um suprimento contínuo de glicose a tecidos que necessitam deste substrato como fonte primária de energia (DEVLIN, 2007), como o músculo esquelético, no caso de exercícios em torno do EEML.

## **2.2. Bioquímica muscular: formação de espécies reativas de oxigênio**

Radicais livres são moléculas com átomos altamente reativos que contêm número ímpar de elétrons em sua última camada eletrônica (FANHANI; FERREIRA, 2006). E que ocorrem naturalmente pelos processos normais de oxidação celular (ALDRED, 2007).

No músculo esquelético em atividade a formação de radicais livres pode trazer sérias consequências às proteínas contráteis deste tecido. De acordo com Powers e Howley (2005), os danos relacionados aos radicais livres nas proteínas contráteis dos músculos (por exemplo, actina e miosina) podem prejudicar a produção de força muscular ao limitar a ligação em ponte cruzada da miosina com a actina, isso reduziria o número de pontes cruzadas da miosina em um diferente tipo de ligação e diminuiria a produção de força muscular.

As EROs são produtos de ordem fisiológica normal do metabolismo aeróbio (RADAK et al., 2007). Porém, o aumento no consumo de oxigênio durante o exercício físico conduz ao aumento na formação de EROs (ARAÚJO et al., 2008). Desta forma, o acúmulo de reações oxidativas pode contribuir para alterações severas em diversas estruturas celulares como lipídeos, proteínas, organelas e ácidos nucleicos (NETO, 2008).

Para se proteger de lesões induzidas pelo exercício físico, às células musculares contêm complexos mecanismos de defesa (enzimáticos e não enzimáticos antioxidantes) para eliminar EROs (MOREIRA; TEODORO; MAGALHÃES NETO, 2008). De acordo com Silveira (2004) o sistema de defesa antioxidante pode ser enzimático, que inclui a superóxido dismutase, a glutathiona peroxidase, a glutathiona

redutase e a catalase. E o não enzimático representado por compostos sintetizados pelo organismo humano como bilirrubina, ceruloplasmina, hormônios sexuais, melatonina, coenzima Q, ácido úrico e demais composto ingeridos através da dieta regular ou via suplementação como ácido ascórbico (vitamina C),  $\alpha$ -tocoferol (vitamina E),  $\beta$ -caroteno (precursor da vitamina A) e grupos fenóis de plantas (flavonóides) (SCHNEIDER; OLIVEIRA, 2004).

Apesar de essas defesas antioxidantes reduzirem os riscos de lesões oxidativas por EROs, os organismos podem vivenciar situações onde a proteção é insuficiente (PEREIRA, 1996), como no caso de exercícios de alta intensidade. O exercício físico associado com dano oxidativo depende do tipo e da intensidade do exercício, mas, apesar dos grandes esforços despendidos, as causas do desequilíbrio entre os agentes oxidante e antioxidante durante o exercício ainda são desconhecidos (PINHO et al., 2006).

### **2.3. Contração muscular e danos tissulares**

O exercício físico intenso aumenta de 10 a 20 vezes o consumo total de oxigênio do organismo induzindo a formação excessiva de EROs associada ao metabolismo energético acelerado, essas espécies podem contribuir para danos tissulares e celulares, incluindo modificação oxidativa do DNA, contudo, prejudicando o desempenho físico (ZANELLA; SOUZA; GODOY, 2007) (figura 2).

Alternativamente a mitocôndria, o processo inflamatório no tecido muscular parece condizente com o estresse metabólico proporcionado pelas contrações anaeróbias intensas. Tanto o exercício aeróbio quanto o anaeróbio acarretam estresse oxidativo, sendo assim, a maioria das respostas e adaptações sendo diferenciadas conforme o tipo de fibra muscular recrutada (SOUZA; FERNANDES; CYRINO, 2006).

Os movimentos realizados com determinada sobrecarga podem resultar em danos nas estruturas musculares como membranas, linha Z, sarcolema, túbulos T e miofibrilas (FOSCHINI; PRESTES; CHARRO, 2007). Estas microlesões se caracterizam por distúrbios nas proteínas estruturais encontradas nas células musculares e no tecido conjuntivo sempre quando houver a predominância de contrações musculares excêntricas (NASCIMENTO et al., 2007).

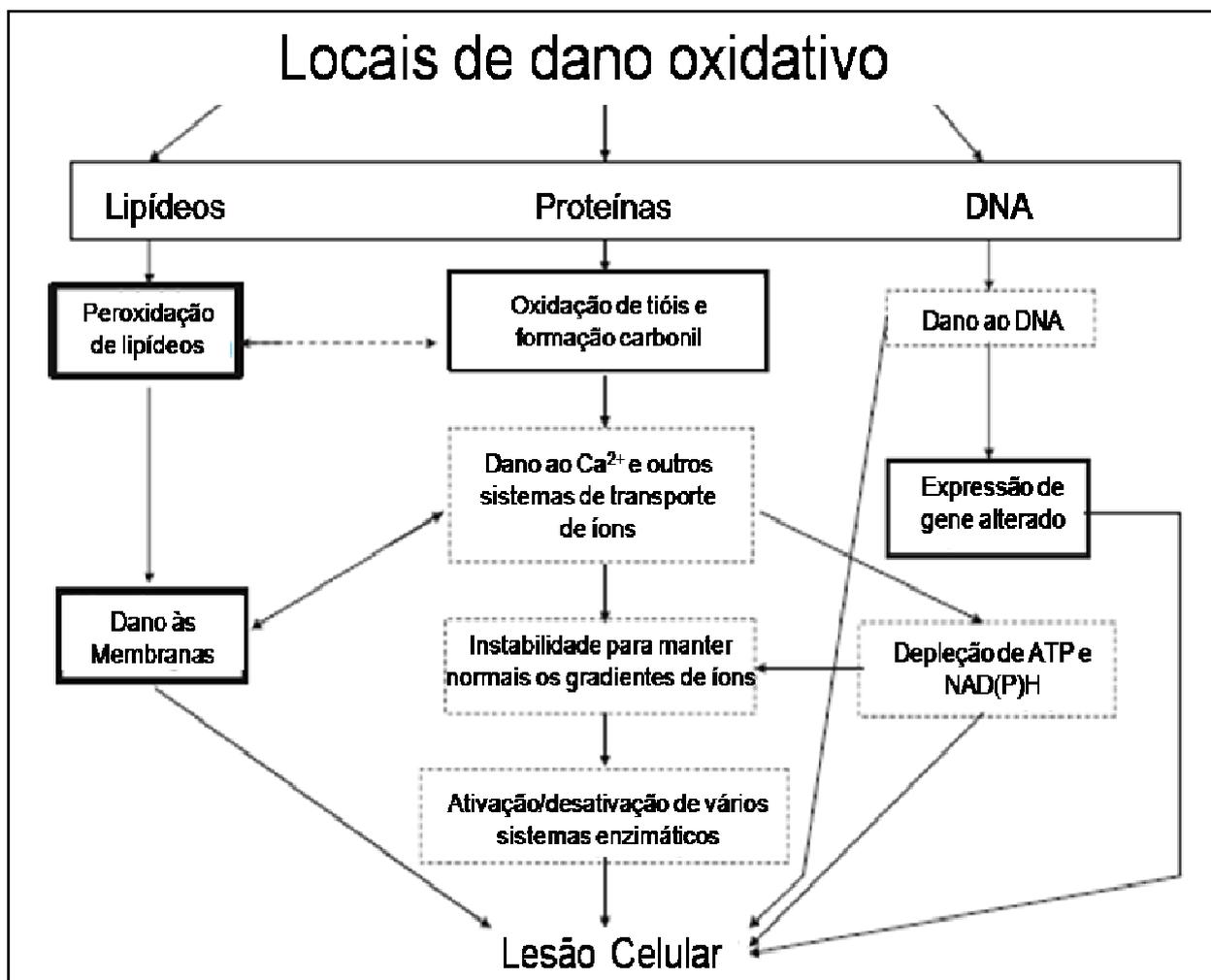


Figura 02. Locais de dano oxidativo.

Fonte: FULLE et al., 2008.

Para reparar o dano muscular os leucócitos migram para o local lesionado iniciando a resposta inflamatória (FOSCHINI; PRESTES; CHARRO, 2007). Com a lesão da membrana plasmática ocorre uma difusão dos componentes intracelulares para o interstício e para o plasma promovendo o deslocamento dos neutrófilos ao local danificado combatendo este tecido (NASCIMENTO et al., 2007). Provavelmente os produtos da fagocitose de neutrófilos e macrófagos sejam os responsáveis pelo estímulo a terminações nervosas livres do músculo esquelético instalando a dor muscular de início tardio (figura 3) (FOSCHINI; PRESTES; CHARRO, 2007). Dependendo do indivíduo esta dor poderá perdurar de 24 a 48 horas após o exercício (NASCIMENTO et al., 2007).

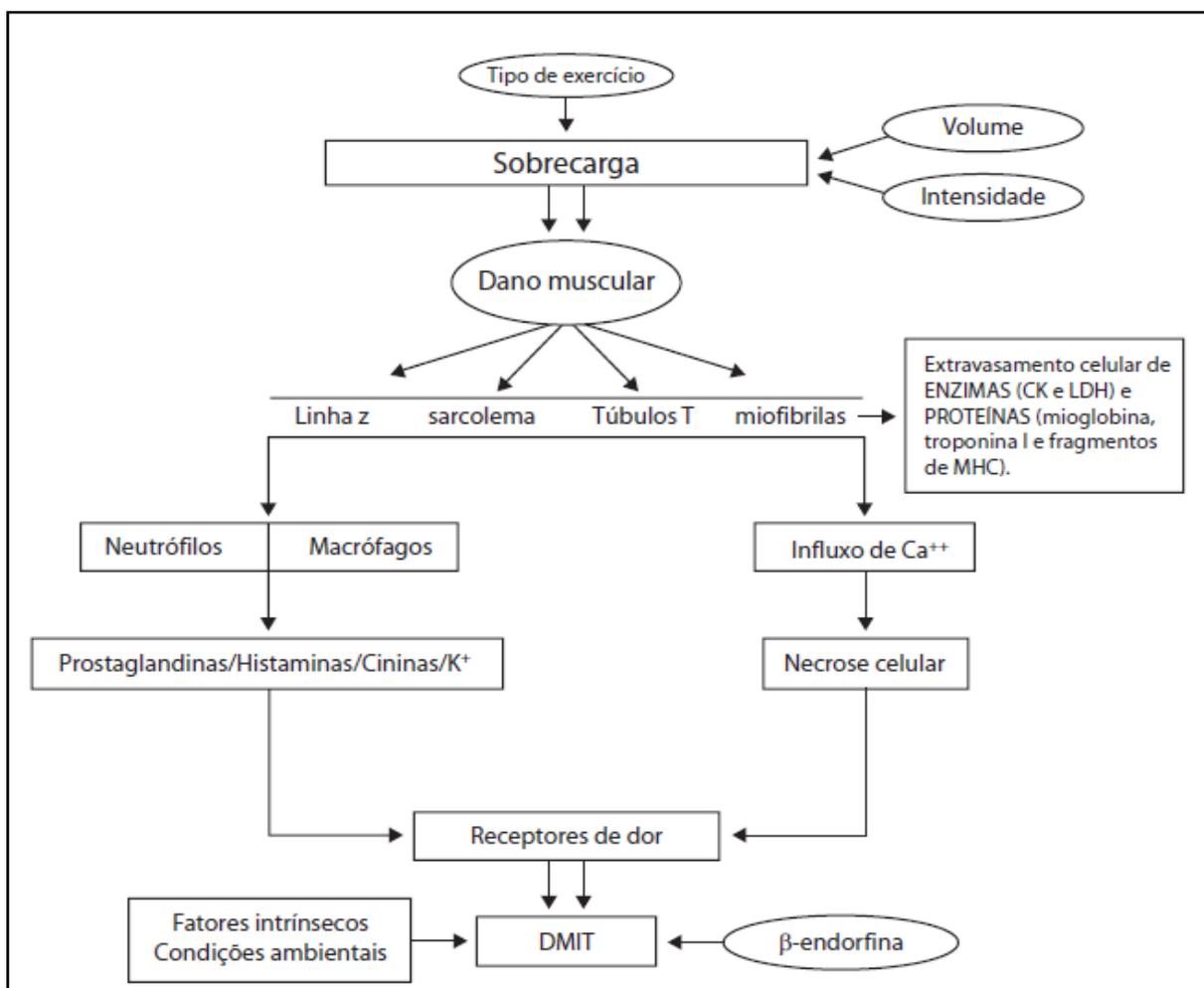


Figura 03. Relação entre exercício, dano muscular e dor muscular de início tardio.

Fonte: FOSCHINI; PRESTES; CHARRO, 2007, p.104.

#### 2.4. Metabolismo intermediário: formação da acidose metabólica

Em exercícios que exigem um recrutamento rápido das fibras musculares, como nos que ocorrem com predominância anaeróbia, à incapacidade em manter os potenciais de ação em altas frequências constitui um importante fator desencadeador da fadiga (LIMA-SILVA; OLIVEIRA; GEVAERD, 2006).

O lactato é um metabólico produzido constantemente por diversos tecidos do corpo humano, como o fígado, intestinos, hemácias e músculo esquelético, mesmo em repouso (ARAÚJO et al., 2008). Durante o exercício intenso, o músculo esquelético contribui com a maior parte do lactato produzido em excesso pelo organismo (SOUZA; ELIAS, 2008). A concentração de lactato no sangue aumenta exponencialmente com a intensidade do exercício (VOLTARELLI; GOBATTO; MELLO, 2002). Contudo, estudos mostram que a acidose metabólica ocorre quando

há uma alta demanda por ATP (pela alta hidrólise de ATP) excedendo a taxa na qual o ATP é produzido na mitocôndria via sistema aeróbio (BROOKS et al., 1999). Isto é evidenciado pela fonte imediata que produz prótons, pois ATP é hidrolisado pela ATPase produzindo  $\text{ADP} + \text{H}^+ + \text{Pi} + \text{energia}$  (figura 4). Este produto reage com a creatina fosfato pela ação da creatinacina ressintetizando  $\text{ATP} + \text{Cr}$  e incorporando os prótons, só que este processo é pouco eficiente em tamponar os prótons de hidrogênio ( $\text{H}^+$ ) produzidos pela hidrólise do ATP (BROOKS et al., 1999) (figura 1, pag. 22).

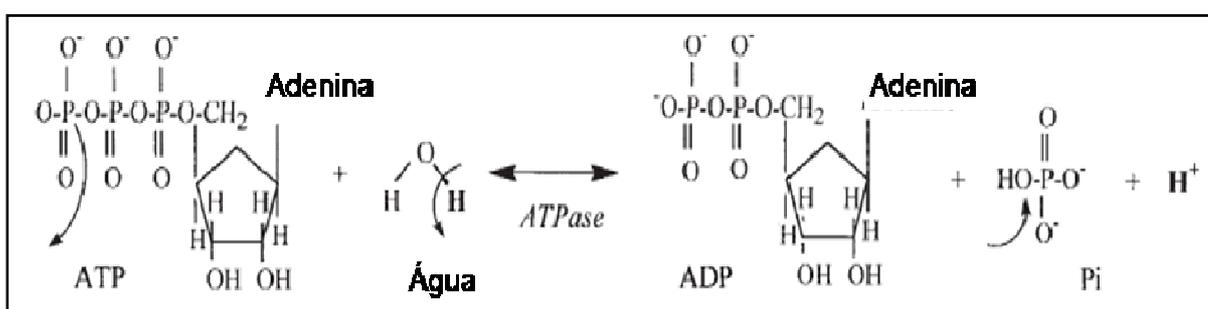


Figura 04. Hidrólise do ATP pela ATPase e a formação de  $\text{H}^+$ .

Fonte: ROBERGS; GHIASVAND; PARKER, 2004, p.509.

Grande parte da energia gerada pelas vias anaeróbias utiliza o sistema da glicólise com conseqüente formação de ácido láctico (PEREIRA; BORGES, 2006). O ácido láctico é 99% dissociado em ânion de lactato e  $\text{H}^+$  (GLADDEN, 2004). O lactato gerado pelo metabolismo glicolítico, representa uma molécula de tamponamento aos íons hidrogênio formados durante o processo de degradação dos substratos (LAPIN et al., 2007) (figura 5).

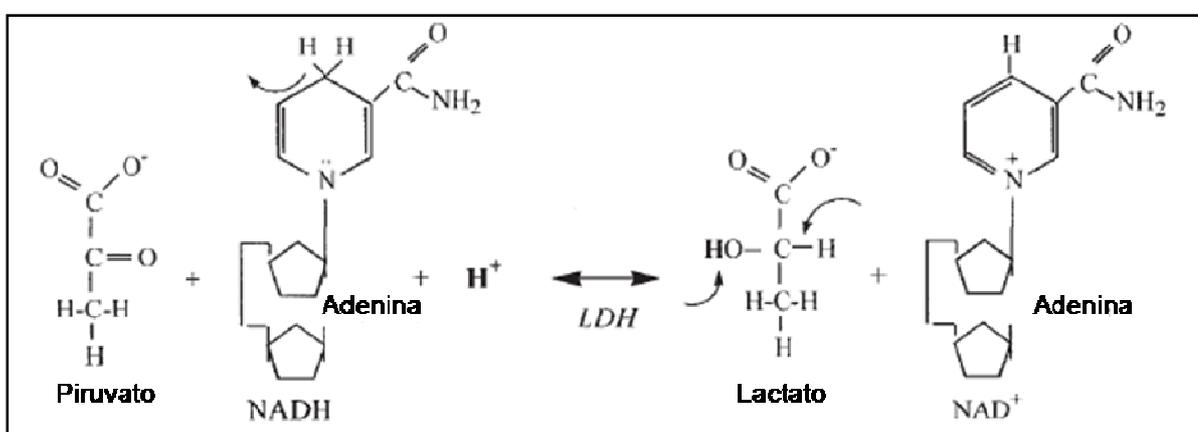


Figura 05. Tamponamento temporário de  $\text{H}^+$  pelo lactato.

Fonte: ROBERGS; GHIASVAND; PARKER, 2004, p.509.

Outro fato importante sobre a acidose metabólica é o revelado pelo estudo realizado por Juel et al. (2004), demonstrado através da figura 6, onde as concentrações de lactato e prótons na musculatura esquelética não são equivalentes em exercício intermitente de alta intensidade, portanto a acidose metabólica não deve ser exclusivamente atribuída ao lactato.

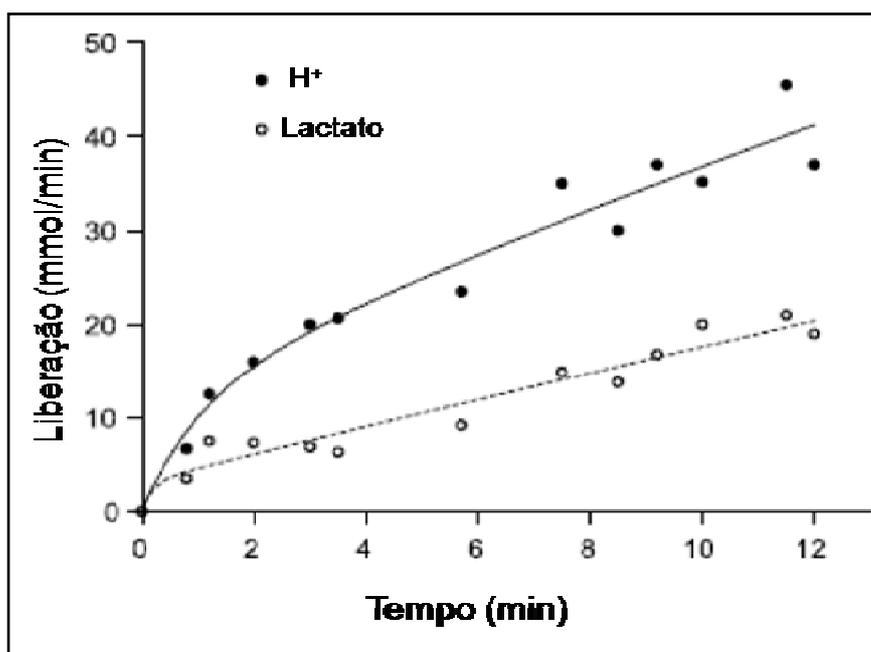


Figura 06. Diferenças na concentração de lactato e prótons.

Fonte: JUEL et al., 2004.

## 2.5. Interferência da intensidade do exercício sobre a utilização de glicogênio/glicose.

Os hormônios podem afetar significativamente o metabolismo energético, durante o exercício, por exemplo, a ação da insulina, do hormônio do crescimento (GH), do glucagon, do cortisol e das catecolaminas tem influência na disponibilidade de energia e na sua obtenção pelos tecidos alvo (LAPIN et al., 2007).

Em tecidos que respondem à insulina como o muscular, este hormônio multiplica por várias vezes o transporte de glicose para dentro das células, mas a velocidade máxima ( $V_{max}$ ) de transporte de glicose aumenta não porque a insulina altera a atividade catalítica intrínseca do receptor, mas porque ela aumenta o número de transportadores na superfície da célula (PRATT; CORNELLY, 2006). A insulina atua aumentando a captação de glicose nos tecidos para que possa ser utilizada como

substrato energético e/ou armazenada na forma de glicogênio, no fígado e no músculo esquelético (LAPIN et al., 2007). Durante o exercício a concentração de insulina é diminuída em função da ação das catecolaminas sobre o pâncreas (ANDRADE; RIBEIRO; CARMO, 2006).

O glucagon, diferentemente da insulina, estimula o fígado a liberar glicose produzida pela glicogenólise e pela gliconeogênese e estimula o tecido adiposo a sofrer lipólise, liberando ácidos graxos para a circulação, o grande diferencial é que as células do tecido muscular não expressam receptor de glucagon, e assim, não respondem ao hormônio (PRATT; CORNELLY, 2006).

As células musculares, no entanto, possuem receptores para adrenalina (epinefrina; receptores  $\beta$ -adrenérgicos), os quais controlam, com a intermediação do cAMP, a cascata de fosforilação/desfosforilação que regula a síntese e a degradação do glicogênio, este é o mesmo sistema de cascata que controla a competição entre a glicólise e a gliconeogênese no fígado em resposta ao glucagon (VOET; VOET, 2006).

As elevações nas concentrações séricas de adrenalina e noradrenalina ativam a glicogenólise no músculo durante o exercício para fornecer substrato para a contração muscular (LAPIN et al., 2007). A adrenalina, e em menor extensão a noradrenalina, atua inibindo a liberação da insulina em exercício leve e moderado, mas em exercícios intensos há uma grande demanda energética, dependente dos CHOs, o que pode levar ao aumento das concentrações de lactato (ANDRADE; RIBEIRO; CARMO, 2006).

Em relação ao hormônio GH, este eleva a liberação de AGLs a partir do tecido adiposo e reduz a utilização de glicose como fonte primária de energia (LAPIN et al., 2007).

O hormônio do estresse, cortisol, expressa uma ação catabólica importante, prevenindo a reesterificação dos AGLs e induzindo a lipólise (ARAÚJO et al., 2008).

As reservas de glicogênio muscular são estreitamente relacionadas ao desempenho e tempo de sustentação do esforço em determinado exercício, sendo que a transferência de predominância do metabolismo de glicogênio muscular para o de lipídeos acontece com o prolongamento do exercício, à medida que diminuem as reservas de CHOs (LIMA-SILVA et al., 2007).

Nos primeiros estágios do exercício, a maior parte da energia obtida dos CHOs, deriva do glicogênio muscular, à medida que o exercício prossegue, a utilização de

glicogênio muscular diminui, sendo que a redução da dependência do glicogênio muscular é compensada por uma maior dependência da glicemia para obtenção de energia proveniente dos CHOs (ARRUDA et al., 2006).

Os AGLs no plasma fornecem a maioria dos substratos oxidados pelo músculo esquelético durante exercício de baixa e moderada intensidade (25 a 65% do consumo máximo de oxigênio -  $VO_{2max}$ ) (VAN LOON et al., 2001).

Em exercícios submáximos (entre 65 a 75% do  $VO_{2max}$ ), a degradação absoluta do glicogênio diminui com o prolongamento do exercício, enquanto os AGLs circulantes no plasma e a glicose sangüínea aumentam sua participação na ressíntese do ATP (LIMA-SILVA et al., 2007). Entretanto, durante o exercício prolongado há um aumento da demanda por glicose pelo músculo em contração o que causa uma elevação no consumo deste substrato por este tecido que se mantêm em atividade (SUH; PAIK; JACOBS, 2007), este processo é chamado “crossover point”, como mostra a figura abaixo.

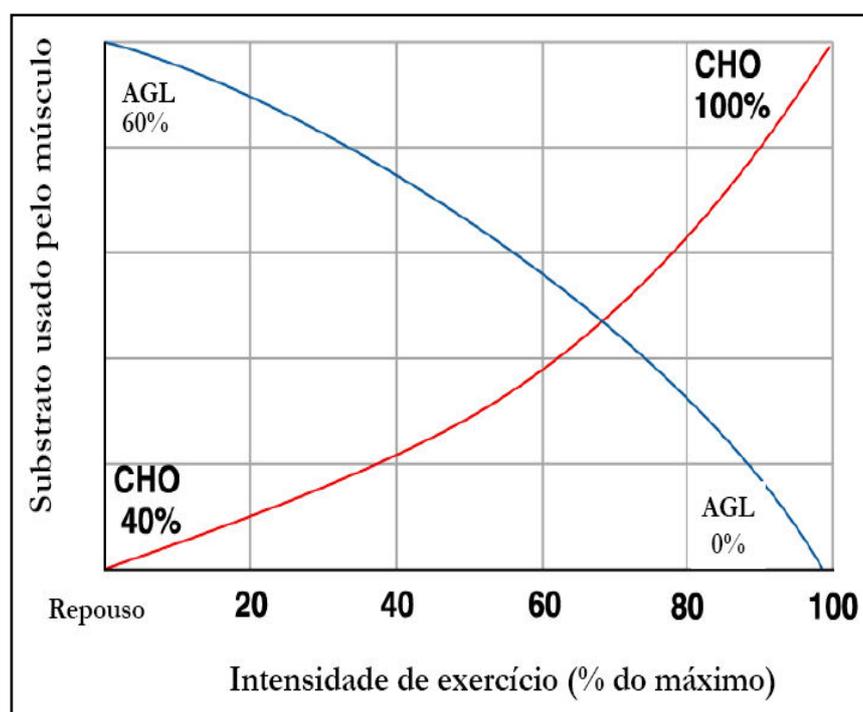


Figura 07. “Crossover point”.

Fonte: Adaptado de BROOKS; MERCIER, 1994.

## 2.6. Suplementação para atletas

Quando há um sincronismo adequado entre a intensidade e o volume de treinamento, com tempo suficiente para descanso, ocorre uma situação propícia para a adaptação e, consecutivamente, a supercompensação (SANTOS; CAPERUTO; ROSA, 2006). Mas, a interrupção antecipada dos períodos de recuperação, aliada ao aumento progressivo do volume ou da intensidade de treinamento, torna a rotina do atleta cada vez mais extenuante (ROGERO; MENDES; TIRAPEGUI, 2005).

Nestas condições, uma boa nutrição é importante, pois facilita a recuperação do treinamento (MILLARD-STAFFORD et al., 2005). Níveis aumentados de glicogênio muscular, obtidos por combinação de exercício e dieta (supercompensação), prorrogam o tempo de permanência no esforço, enquanto níveis reduzidos por jejum ou reposição inadequada de CHOs dietéticos levam a uma diminuição no tempo em atividade (LIMA-SILVA et al., 2007).

O consumo de soluções esportivas contendo variadas quantidades de eletrólitos e outros nutrientes como CHOs podem evitar ou diminuir algumas das respostas que o exercício produz no organismo e que são, ou podem ser, causa de fadiga (ROMBALDI; SAMPEDRO, 2001). A glicose sangüínea vem a ser, um rico e precioso combustível, que deve ser utilizado, predominantemente, pelo músculo ativo, quando alta concentração plasmática desse substrato passa a ser mantida, por infusão ou ingestão (LIMA-SILVA et al., 2007). Portanto, a ingestão de CHOs aumenta a taxa de utilização deste substrato e ainda auxilia a retardar o começo da fadiga (WU; WILLIAMS, 2006).

A maioria dos estudos que utilizam suplementações a base de CHOs sobre o desempenho tem utilizado soluções líquidas como a sua forma de suplemento (CAMPBELL et al., 2008). As soluções esportivas comercialmente disponíveis são formuladas de modo a incluírem CHOs em concentrações de 2 a 10%, em diversas formas, podendo ser por glicose, sacarose, frutose e polímeros de glicose (maltodextrina) (LEE et al., 2008). A tabela abaixo apresenta os principais tipos de CHOs utilizados em soluções esportivas.

Tabela 01: Osmolaridade de alguns CHOs em solução.

<b>Soluções</b>	<b>Osmolaridades</b>
Glicose a 5%	277mOsm.L <sup>-1</sup>
<b>Glicose a 8%*</b>	<b>444mOsm.L<sup>-1</sup></b>
Glicose a 10%	555mOsm.L <sup>-1</sup>
<b>Maltodextrina a 8%*</b>	<b>67mOsm.L<sup>-1</sup></b>
<b>Sacarose a 8%*</b>	<b>233mOsm.L<sup>-1</sup></b>
Sacarose a 10%	292,5mOsm.L <sup>-1</sup>
Plasma humano	280-300mOsm.L <sup>-1</sup>
<b>Estômago humano</b>	<b>±300mOsm.L<sup>-1</sup></b>

\* Soluções com a mesma massa de soluto dissolvida, mas com osmolaridades diferentes.

Fonte: Tarefas laboratoriais de graduação em Fisiologia do Exercício. Dados não publicados.

Como muitos atletas treinam ou competem em dias consecutivos a restauração rápida dos estoques musculares de glicogênio durante o período de recuperação é essencial. Portanto, o consumo de alimentos com altos teores de CHOs ou soluções líquidas nutritivas ingeridas após o exercício é agora uma prática comum (STEVENSON et al., 2005). Dessa maneira, Rombaldi (1996) enfatiza que a ingestão de glicose, sacarose ou polímeros de glicose (por exemplo, a maltodextrina) imediatamente antes, durante ou após exercício podem aumentar a capacidade de desempenho físico, entretanto, ainda existem dúvidas sobre o valor da ingestão de CHOs em exercícios de intensidades elevadas (acima de 80% do VO<sub>2</sub>max) e menor duração (até uma hora), e fundamentalmente, se ocorre ou não economia nas reservas de glicogênio muscular e hepático em humanos.

## 2.7. Aspectos imunológicos associados à reposição de carboidratos

A principal função do sistema imunológico é proteger o corpo contra doenças infecciosas. A característica fundamental deste sistema é que ele envolve múltiplos tipos celulares funcionalmente diferentes e que permitem uma ampla variedade de mecanismos de defesa. Também, é bem estabelecido que o estado nutricional geral de um indivíduo modula sua função imune (ALBERS et al., 2005).

Neste sentido, Carlson et al. (2008) investigaram as mudanças em subpopulações celulares do sistema imunológico, após sessão aguda de exercício

de resistência e também observaram se a ingestão de CHO atenuaria estas respostas, em atletas do sexo masculino. Os participantes ingeriram uma solução contendo 1g de CHO/Kg de peso corporal ou volume igual de uma solução placebo. Imediatamente após o exercício houve uma menor ( $p < 0,05$ ) concentração de linfócitos no grupo que consumiu a solução CHO comparada ao grupo que consumiu a solução placebo.

Nieman et al. (2004) realizaram um estudo onde homens treinados executaram exercício de resistência muscular por duas horas e utilizando solução CHO (6%) ou placebo. Os principais resultados indicaram que o aumento nas quantidades celulares totais de leucócitos, neutrófilos e monócitos foi atenuado no grupo que ingeriu CHO comparado com o grupo placebo. A média de neutrocitose foi de 39 e 82% e de monocitose 4 e 42% nas condições CHO e placebo, respectivamente (efeitos da interação,  $p < 0,05$ ).

Para determinar o efeito de solução CHO sobre as células natural killer (NK), onze atletas completaram dois testes de exercício aeróbio a 73,5% do consumo de oxigênio de pico ( $VO_{2\text{pico}}$ ), sob condições CHO ou placebo. Na atividade das células NK foi encontrada uma interação entre solução x tempo ( $F=4,8$ ;  $p=0,022$ ) onde as concentrações celulares para solução CHO imediatamente após exercício e placebo imediatamente após exercício foram significativamente maiores do que pré-exercício (McFARLIN; HUTCHISON; KUEHT, 2008).

## **2.8. Aspectos imunológicos associados ao exercício físico**

A resposta imune tem papel fundamental na defesa contra agentes infecciosos e se constitui no principal impedimento para a ocorrência de infecções disseminadas, habitualmente associadas com alto índice de mortalidade. Também, é conhecido o fato de que, para a quase totalidade das doenças infecciosas, o número de indivíduos expostos à infecção é bem superior ao dos que apresentam doença, indicando que a maioria das pessoas tem condições de destruir esses microorganismos e impedir a progressão da infecção (MACHADO et al., 2004).

Considerando a ação do exercício sobre as células do sistema imunológico, alguns estudos observaram que a glutamina é o principal substrato para as células deste sistema. A glutamina é o aminoácido precursor da purina e pirimidina, que são necessárias para a ativação rápida dos linfócitos e dos macrófagos (ROTH et al., 2002). Alguns dos carbonos da glutamina são completamente oxidados pelas

células do sistema imune. Esta oxidação parcial da glutamina é conhecida como glutaminólise, além disso, a glutamina fornece nitrogênio para a síntese de nucleotídeos da purina e pirimidina, sendo estes nucleotídeos necessários para a síntese de novos DNA e RNA durante a proliferação de linfócitos e macrófagos, para a síntese de mRNA e o reparo de DNA. Entretanto, a taxa de glutaminólise em linfócitos é substancialmente maior do que a taxa de síntese destes compostos (CASTELL, 2002).

Garcia; Pithon-Curi e Curi (2000) enfatizam que o treinamento tem como característica estimular adaptações morfológicas e metabólicas nos músculos esqueléticos e alterar a mobilização e utilização de substratos energéticos. No treinamento, outras alterações como irritabilidade e diminuição do desempenho podem ser observadas, juntamente com a diminuição da concentração de glutamina e maior incidência de sintomas de infecções respiratórias, caracterizando uma condição denominada como síndrome do excesso de treinamento (overtraining) (FRANCISCO et al., 2002). Dentre as alterações fisiológicas, acarretadas pelo “overtraining”, deve-se incluir a função imune (GARCIA; PITHON-CURI; CURI, 2000).

Períodos prolongados de exercício físico podem causar depressão temporária em diversos aspectos da função imunológica, contudo, em intensidade e volume moderados de treinamento ocorrem as melhores respostas imunes, comparados a intensidades baixas e elevadas (ARAÚJO et al., 2008).

O exercício físico de alta intensidade ou de duração prolongada pode produzir uma “janela aberta” indicativa de um maior risco de infecções (RADAK et al., 2008). Além disso, o exercício físico de alta intensidade causa danos aos tecidos, produção de hormônios do estresse e alteração na quantidade circulante e na função de várias células do sistema imune (NATALE et al., 2003). Principalmente, o exercício físico que acarreta estresse oxidativo pode causar danos ao sistema imunológico (HEMILÂ et al., 2006).

### **2.8.1 Resposta imunológica de atletas ao exercício físico**

Parece haver um limiar de estímulo necessário para que ocorram mudanças na imunidade ou na distribuição celular. E quanto maior a intensidade aplicada nos exercícios maior será a perturbação ocasionada (BRAUN; VON DUVILLARD, 2004).

A resposta imunológica de atletas ao exercício físico revelou os seguintes resultados.

Em corredores saudáveis que realizaram um protocolo de corrida intensa em esteira rolante a uma velocidade correspondente a 80% do  $VO_2\text{max}$  e até chegarem à exaustão os resultados indicaram aumento imediatamente após o exercício ( $p < 0,05$ ) no número total de linfócitos, seguido por queda no número das subpopulações de linfócitos uma hora depois do término do teste resultando em linfocitopenia ( $p < 0,05$ ) (SIMPSON et al., 2007).

Em jogadores masculinos de futebol de elite da Categoria Júnior, saudáveis e livres de lesões foi investigado o efeito do treinamento de campo para o desenvolvimento do desempenho esportivo sobre diferentes células imunológicas. Os resultados mostraram que o número de leucócitos diminuiu em 20% devido à diminuição no número de células T (linfócitos T) e células B (linfócitos B). O número de neutrófilos e monócitos sanguíneos não se modificou antes e após o treinamento de campo. Observou-se, também, que não houve mudança significativa no número circulante de células NK. O número de células T auxiliares ( $CD3^+ CD4^+$ ) e T citotóxicas ( $CD3^+ CD8^+$ ) ambas diminuíram em aproximadamente 30% após, o treinamento (MALM; EKBLÖM; EKBLÖM, 2004).

Karacabey et al. (2005) investigaram as diferenças entre mulheres atletas e mulheres sedentárias sobre os efeitos do exercício aeróbio e anaeróbio nos parâmetros imune humoral. As mulheres atletas foram divididas em dois grupos. As que foram submetidas a 30min de exercício aeróbio em esteira rolante a uma intensidade aproximada de 60 a 70% da reserva cardíaca e o grupo que realizou um teste de Wingate em 30seg. O terceiro grupo chamado controle foi composto por mulheres sedentárias. Os resultados do estudo ao comparar os grupos de atletas com o de mulheres sedentárias indicaram aproximadamente 30% a menos de IgA e IgG no grupo de mulheres sedentárias ( $p < 0,05$ ). No segundo e quinto dias após, o exercício obteve-se aproximadamente 16% de elevação nos níveis de IgA ( $p < 0,05$ ) e de 11% e 100% de elevação nos níveis de IgG ( $p < 0,05$ ) e IgM ( $p < 0,01$ ), respectivamente, em mulheres atletas submetidas ao exercício aeróbio.

Trinta e sete homens ciclistas, experientes na modalidade participaram de um dia de prova de ciclismo em Öztaller Radmarathon que pertence à categoria de "Cycle-Touring Event" da Union Cycliste Internationale (UCI). A prova consistiu em percorrer uma distância de 230km em altitude de 550-2500m acima do nível do mar.

Observou-se que a média da concentração de IL-8 no plasma ( $142,27 \pm 21,85$  pg/mL pré-prova) permaneceu quase inalterada imediatamente pós-prova ( $124,35 \pm 13,16$  pg/mL,  $p=1,00$ ), mas declinou significativamente 24h depois da prova ( $62,92 \pm 6,80$  pg/mL,  $p=0,002$ ) (NEUMAYR et al., 2005).

Embora as amplas diversidades de estudos referentes às alterações imunológicas decorrentes do exercício físico faltam dados conclusivos na literatura sobre danos celulares e reparação dos tecidos associados com as modificações imunes impostas pelo treinamento crônico.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### 3.1. Animais

Para o desenvolvimento deste estudo serão utilizados 69 ratos machos, *Rattus norvegicus* – Wistar/UFPel, com idade de 60 dias e pesando entre 200 a 300g no começo do experimento. Os animais provenientes do Biotério da UFPel serão alimentados com ração balanceada padrão (Nuvilab<sup>®</sup> CR1 – alimento completo, balanceado ou formulado para camundongos e ratos) e água “ad libitum”, distribuídos em gaiolas para ratos nas dimensões de 41x34x16cm em polipropileno autoclavável e tampa em arame galvanizado, mamadeiras em vidro de 350mL com rolha de borracha preta cônica e bico reto em inox. Os animais serão alojados em grupos de cinco ou quatro por gaiola conforme o espaço recomendado para roedores de laboratório obtido no Manual sobre cuidados e usos de animais de laboratório, 2003. A alocação se dará de maneira que a cada duas gaiolas corresponderá a um grupo experimental, totalizando dez ou nove animais por grupo. A temperatura ambiente será controlada entre 21-25°C, umidade entre 50-60% e fotoperíodo de 12h claro e 12h escuro, começando às 18h.

Antes do período de adaptação ao meio líquido, os animais serão pesados e distribuídos aleatoriamente em seis grupos: SN (sedentário não suplementado, n=12), SS (sedentário suplementado, n=12), TEN (treinado em EEML não suplementado, n=11), TES (treinado em EEML suplementado, n=11), TAN (treinado em alta intensidade não suplementado, n=12) e TAS (treinado em alta intensidade suplementado, n=11). O período de adaptação ao meio líquido (duas semanas) será realizado pelos animais submetidos ao protocolo de treinamento. A natação será sempre realizada em tanque coletivo cilíndrico de 77cm de diâmetro e 62cm de altura. A água será mantida em profundidade de 50cm e permanecerá a temperatura de 30±1°C através de uma central de aquecimento de água.

Após, cada sessão de treinamento de natação todos os animais serão secos e colocados em ambiente com temperatura entre 21 e 25°C, para evitar complicações fisiológicas provenientes do frio e da umidade.

### 3.2. Protocolo de suplementação

Toda esta técnica será realizada seguindo as recomendações utilizadas por Rombaldi (1996). Os animais dos grupos SS, TES e TAS (grupos sedentário, treinados em EEML e em alta intensidade, suplementados) serão suplementados com solução carboidratada líquida a 12% (m/v) de maltodextrina dissolvida em água destilada. A massa de CHO ingerida será de  $0,48\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  de peso, sendo que o volume de solução ou de água pura (grupo não suplementado) ingerido por cada animal será calculado a partir do peso de cada roedor. Administrar-se-á 1mL de líquido para cada 250g de peso e a cada 5g de peso superior ou inferior ao peso base, o volume aumentará ou diminuirá em 0,02mL (Anexo 1), sendo que tanto a solução carboidratada como a água destilada pura serão providenciadas no dia anterior ao treinamento e armazenadas a 5°C. No dia do treinamento, os recipientes com as soluções serão mantidos em gelo dentro de uma caixa de isopor fechada de maneira a mantê-las na temperatura de 5°C.

A suplementação carboidratada ou água pura serão administradas imediatamente antes de iniciar o treinamento, após um prévio aquecimento de natação dos animais por 2min. A administração da solução carboidratada ou água pura será realizada sempre pela mesma pessoa com experiência no uso da sonda orogástrica (tubos gástricos – “gavage”) em ratos.

Os animais não suplementados (grupos SN, TEN e TAN) receberão somente água pura utilizando-se a mesma técnica e nos mesmos momentos dos grupos suplementados.

A suplementação líquida com solução carboidratada a 12% (m/v) de maltodextrina (carboidrato complexo) passará a ser administrada, após o período de adaptação dos animais ao meio líquido. Os animais serão suplementados cinco vezes por semana, durante o período de treinamento (por 37 dias).

### 3.3. Protocolo de treinamento

O período essencial para que o treinamento produza as necessárias adaptações será de oito semanas. Os animais nadarão cinco vezes por semana consecutivamente, durante 60min por dia e de forma contínua ou intermitente (2 períodos de 30min, com 10min de intervalo entre os períodos, sendo o padrão de exercício e repouso de 15seg de duração, caracterizando a forma intermitente). Durante as duas primeiras semanas, os animais serão adaptados progressivamente

a sobrecarga pretendida, de modo que no final da segunda semana suportem o sobrepeso de 5% e o exercício contínuo (em EEML) com 60min de duração ou o sobrepeso de 10% com a mesma duração por sessão, porém de padrão intermitente (exercício de alta intensidade). O experimento será realizado no ciclo claro entre 18h00min e 6h00min. As sobrecargas utilizadas serão correspondentes a 5% do peso corporal, pois de acordo com Gobatto et al. (2001), ratos destreinados suportam sobrecargas de 5 a 6% do peso corporal e permitem a estabilização do EEML a uma concentração de lactato sanguíneo de 5,5mmol/L, ou de 10% do peso corporal, considerada carga de treinamento de alta intensidade. O peso corporal dos ratos será monitorado semanalmente, às segundas-feiras, durante todo o período experimental e feito à correção da sobrecarga advinda pela adaptação ao treinamento. Os animais dos grupos sedentários serão colocados em tanque com água rasa, em profundidade de 10cm (banho de emersão) a temperatura de  $30\pm 1^{\circ}\text{C}$ , por 20 minutos, 5 dias/semana e serão usados como controles. O quadro 1, apresenta um resumo do protocolo de treinamento e suplementação.

Quadro 01: Resumo do protocolo de treinamento e suplementação.

<b>PROTOCOLO DE TREINAMENTO E SUPLEMENTAÇÃO</b>					
<b>PERÍODO DE ADAPTAÇÃO</b>					
1ª Semana (grupos treinados em EEML e em alta intensidade)					
Dias	Qua	Qui	Sex	Sab	Dom
Minutos	30	60	30	60	20
Sobrecarga	L*	L	3%**	3%	4%**
2ª Semana (grupos treinados em EEML)					
Dias	Qua	Qui	Sex	Sab	Dom
Minutos	30	50	60	30	60
Sobrecarga	4%	4%	4%	5%**	5%
2ª Semana (grupos treinados em alta intensidade)					
Dias	Qua	Qui	Sex	Sab	Dom
Períodos/minutos	2/20	2/20	2/20	2/20	2/30
Intervalo (min)	10	10	10	10	10
Sobrecarga	6%**	7%**	8%**	10%**	10%
<b>PERÍODO DE TREINAMENTO E SUPLEMENTAÇÃO</b>					
3ª a 8ª Semanas (grupos treinados em EEML)					
Dias	Qua	Qui	Sex	Sab	Dom
Minutos	60	60	60	60	60
Sobrecarga	5%	5%	5%	5%	5%
Soluções (CHO ou H <sub>2</sub> O)	x	x	x	x	x
3ª a 8ª Semanas (grupos treinados em alta intensidade)					
Dias	Qua	Qui	Sex	Sab	Dom

Períodos/minutos	2/30	2/30	2/30	2/30	2/30
Intervalo (min)	10	10	10	10	10
Sobrecarga	10%	10%	10%	10%	10%
Soluções (CHO ou H <sub>2</sub> O)	x	x	x	x	x
<b>ÚLTIMO DIA DE TREINAMENTO (8ª SEMANA)</b>					
Exercício de exaustão sob carga de 10% do peso corporal e administração das soluções CHO ou H <sub>2</sub> O para os grupos treinados em alta intensidade.					

\*Livre de sobrecarga. \*\*Sobrecarga a partir do peso corporal de cada animal.

### 3.4. Exercício de exaustão

No último dia do experimento, os animais dos grupos TAN e TAS nadarão até a exaustão. A sobrecarga utilizada será correspondente a 10% do peso corporal. A exaustão será determinada quando os animais permanecerem submersos por um período superior a 30seg (ROMBALDI, 1996). O exercício de exaustão será realizado com o objetivo de verificar o efeito do exercício anaeróbio de alta intensidade sobre as variáveis dependentes deste estudo.

### 3.5. Delineamento experimental

De acordo com Vieira; Hoffmann (1989) e Gomes (1990), esta pesquisa se caracteriza como sendo do tipo experimental com delineamento inteiramente casual distribuído em seis grupos experimentais (SN, SS, TEN, TES, TAN, TAS). Este estudo seguirá o seguinte delineamento experimental, apresentado no quadro 2.

Quadro 02: Delineamento experimental do estudo.

<b>Grupo experimental</b>	<b><i>Tratamento Experimental</i></b>
SN	<i>Animais mantidos sedentários durante todo período experimental + administração de água pura.</i>
SS	<i>Animais mantidos sedentários durante todo período experimental + suplementação a 12% de maltodextrina.</i>
TEN	<i>Seis semanas de treinamento de natação em padrão contínuo e em EEML (60min/sessão, 5 vezes/semana) + administração de água pura.</i>
TES	<i>Seis semanas de treinamento de natação em padrão contínuo e em EEML (60min/sessão, 5 vezes/semana) +</i>

	<i>suplementação a 12% de maltodextrina.</i>
TAN	<i>Seis semanas de treinamento de natação em padrão intermitente de alta intensidade (60min/sessão, 5 vezes/semana) + exercício de exaustão no último dia de treinamento + administração de água pura.</i>
TAS	<i>Seis semanas de treinamento de natação em padrão intermitente de alta intensidade (60min/sessão, 5 vezes/semana) + exercício de exaustão no último dia de treinamento + suplementação a 12% de maltodextrina.</i>

Onde:

SN: grupo sedentário não suplementado;

SS: grupo sedentário suplementado com maltodextrina 12% (m/v);

TEN: grupo treinado em EEML não suplementado;

TES: grupo treinado em EEML suplementado com maltodextrina 12% (m/v);

TAN: grupo treinado em alta intensidade não suplementado; e

TAS: grupo treinado em alta intensidade suplementado com maltodextrina 12% (m/v).

Neste estudo serão realizadas análises bioquímicas de lactato sanguíneo, do conteúdo de glicogênio hepático e muscular (músculo gastrocnêmio, porções branca e vermelha), de peroxidação lipídica através de produtos que reagem ao ácido tiobarbitúrico (MDA), de proteína carbonil e análise imunológica da contagem total e diferencial de leucócitos.

### **3.6. Procedimentos e métodos de eutanásia**

Ao final do período experimental, imediatamente após a última sessão de treinamento, os animais passarão por anestesia prévia e amostras sanguíneas serão coletadas em tubos de ensaio. Após, eutanásia dos animais por extração total do conteúdo sanguíneo será coletada amostra do tecido hepático e do músculo gastrocnêmio (porções brancas e vermelhas).

Primeiramente, a imobilização do animal se dará por contenção física, conforme técnicas já consagradas. Após, a contenção física o animal será anestesiado com

Tiopental. A via de administração do anestésico será a intraperitoneal e a dosagem utilizada será correspondente a 25mg/kg/v (KIRK, 1984).

A coleta sanguínea será feita por punção cardíaca com anestesia prévia, ao final do período experimental. Durante a coleta sanguínea, os animais sofrerão eutanásia. A eutanásia será necessária, devido à hipovolemia que o animal apresentará ao final da coleta, pois se precisará de aproximadamente 5mL de sangue para avaliação de todas as variáveis do presente estudo, assim sendo, em ratos esta é a quantidade sanguínea aproximada que se pode obter, portanto, para evitar sofrimento destes animais, o emprego da eutanásia justifica-se em obediência a LEI N° 11.794, DE 8 DE OUTUBRO DE 2008 (Capítulo IV, Art. 14, §1°).

O método de eutanásia seguirá as recomendações da Resolução CFMV N° 714, DE 20 DE JUNHO DE 2002.

\* Dispõe sobre procedimentos e métodos de eutanásia em animais, e dá outras providências.

Resolve:

Art. 1° Instituir normas reguladoras de procedimentos relativos à eutanásia em animais.

Posteriormente, a eutanásia, amostra do tecido hepático e muscular será coletada e analisada em duplicata para a determinação do conteúdo de glicogênio nestes tecidos.

As carcaças dos animais serão congeladas até que haja o recolhimento e incineração por uma firma especializada e contratada pela UFPel (AMBIENTUUS – Tecnologia Ambiental Ltda.).

A Comissão de Ética em Experimentação Animal (CEEA) da UFPel deverá aprovar o protocolo experimental que segue as normas sugeridas pelo Comitê Brasileiro de Experimentação Animal e Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório (COBEA/SBCAL).

### **3.7. Coleta e análise do material**

#### **3.7.1. Obtenção das amostras de sangue**

Ao final do período experimental todos os animais (grupos SN, SS, TEN, TES, TAN e TAS) serão submetidos à anestesia, conforme descrito no item acima para coleta de sangue com material descartável. Após, o uso do material descartável,

este será imediatamente desprezado em uma caixa especial para depósito de lixo para descarte.

Posteriormente a extração das amostras sanguíneas (com ou sem anticoagulante) em torno de 1mL será depositado em tubo de ensaio com o anticoagulante EDTA para a determinação da contagem total e diferencial de leucócitos, a segunda amostra do sangue total sem anticoagulante, 25 $\mu$ L para determinação da concentração de lactato e outros 4mL serão centrifugados a 3000rpm por 10min para obtenção do soro. Alíquotas deste material recém obtido serão armazenadas à 20°C negativos para posterior análise das demais variáveis deste estudo.

### **3.7.2. Obtenção das amostras de tecido hepático e muscular**

Por laparotomia mediana será retirada uma porção de aproximadamente 0,2g do fígado. A pele da pata posterior será removida e serão extraídas cerca de 0,2g do músculo gastrocnêmio (porções brancas e vermelhas). Alíquotas duplicatas de cada tecido serão removidas, pesadas e estocadas a 20°C negativos até a extração e quantificação do glicogênio.

### **3.7.3. Determinações bioquímicas**

#### **3.7.3.1. Dano oxidativo**

##### **3.7.3.1.1. Peroxidação lipídica: Dosagem de MDA**

A peroxidação lipídica será estimada pela medida de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) em amostras de soro pelas modificações do método de Jentzsch et al., (1996). Em 0.2mL de soro será adicionado 0,55mL de água deionizada, 1mL de ácido ortofosfórico (0,2mol/L) e 0,25mL de solução alcalina de ácido tiobarbitúrico - TBA (0,1mol/L) (volume final de 2,0mL) seguido por incubação a 90°C durante 45min. A absorbância será determinada em 532nm e comparada com a curva padrão de malondialdeído. Os resultados serão expressos como nmol MDA/mL.

##### **3.7.3.1.2. Dosagem de proteína carbonil**

A dosagem de proteína carbonil no soro será feita conforme as modificações do método de Levine et al. (1990). A proteína será precipitada adicionando 0,5mL de TCA 10% e centrifugação a 5000rpm por 5min descartando o sobrenadante.

Adicionar a este precipitado 0,25mL de 2,4 DNPH 10mM em HCl e incubação a temperatura ambiente no escuro por 30min, a cada 15min agitar no vórtex por 10seg. Após, a incubação, 0,25mL de TCA 10% será adicionado à proteína precipitada e centrifugada em 5000rpm por 5min. Desprezar o sobrenadante e lavar o precipitado por centrifugação à 3500rpm por 5min duas vezes com 1mL de etanol/acetato de etila (1:1). O precipitado será dissolvido em 1500µL de tampão desnaturação SDS 2% pH 8,0 e incubado por 10min a 37°C. A intensidade da cor do sobrenadante será medida usando espectrofotômetro em 370nm e zerando o aparelho com 1,5mL de SDS 2%. O conteúdo de proteína carbonil será expresso como nmol/mg de proteína.

### **3.7.3.2. Determinação do conteúdo de proteínas**

A proteína será determinada de acordo com Bradford (1976) utilizando albumina sérica bovina como proteína padrão.

### **3.7.3.3. Concentração de lactato sanguíneo**

Será determinado no sangue total. Após, a última sessão de treinamento, 25µL de amostras de sangue serão utilizadas para a determinação das concentrações de lactato. O equipamento utilizado para medir as concentrações de lactato será o ACCUSPORT® (Boehringer-Mannheim, Alemanha). A técnica de medida será através da “determinação enzimática e fotometria de reflexão, com comprimento de onda de 660nm”.

### **3.7.3.4. Conteúdo de glicogênio hepático e muscular**

A extração dos tecidos será feita como descrito por Peixoto e Pereira (2007). As amostras de fígado e músculo gastrocnêmio (em torno de 200mg por tecido) serão adicionadas a 2,0mL de KOH 30% e incubadas em 100°C até a completa dissolução do tecido e então serão resfriadas em água gelada. A estas dissoluções serão adicionados 2,0mL de etanol, após misturar as soluções, estas serão incubadas a 70°C por 10min. Posteriormente, os tubos serão resfriados em gelo por 3min e centrifugados em 3000rpm por 5min. O sobrenadante será desprezado e 0,2mL de HCl 5N e 3,8 e 1,8mL de água deionizada será adicionada ao precipitado de fígado e músculo, respectivamente. O conteúdo de glicogênio será determinado conforme o método de Krisman (1962). As amostras (50µL para fígado e 200µL para

os extratos de músculo) serão misturadas com solução reativa de iodo [ $I_2$  0,01% e KI 0,1% em uma solução saturada de  $(NH_4)_2SO_4$ ]. A absorvância será determinada em 460nm e comparada com a curva padrão de glicogênio. O conteúdo de glicogênio dos tecidos será expresso como mg de glicogênio por 100mg de tecido.

### **3.7.4. Determinação imunológica**

#### **3.7.4.1. Contagem total e diferencial de leucócitos**

Esta determinação será feita de maneira adaptada de Dantas et al. (2006). A contagem global dos leucócitos será realizada em câmara de Neubauer, a partir de amostras de sangue com EDTA diluídas na proporção de 1:20 em líquido de Turk. O material, assim obtido será homogeneizado em agitador magnético, durante 45seg e realizada a contagem total de leucócitos em microscópio Zeiss. A contagem diferencial das células da série leucocitária será realizada em esfregaços de sangue fixados e corados pelo método de Giemsa. A lâmina deverá ser imersa no corante durante 20 a 30min após, deve-se lavar a lâmina em água corrente. O verso da lâmina deverá ser limpo e esta deverá secar ao ar livre. Será realizada a contagem diferencial dos leucócitos em microscópio óptico, usando-se objetiva de imersão em óleo.

### **3.8. Análise estatística**

A análise estatística será conduzida no pacote estatístico STATISTICA para Windows, versão 8, da Statsoft. Se as variáveis seguirem a curva normal, será empregada a análise de variância fatorial para a comparação entre as médias. Quando o F for significativo, para localizar as diferenças usar-se-á o teste de Fisher. Se as variáveis apresentarem comportamento não paramétrico, se utilizará o teste Kruskal-Wallis. Os valores serão expressos como médias e desvio-padrão, sendo adotado o nível de significância de  $p < 0,05$ .

## CRONOGRAMA DE ATIVIDADES

Quadro 03. Cronograma de atividades.

Ano	2 0 0 9				2 0 1 0				
Meses	Abril a Julho	Setembro	Setembro a Novembro	Novembro a Janeiro	Janeiro a Março	Março a Agosto	Setembro a Outubro	Novembro a Dezembro	Dezembro de 2010 a Março de 2011
Elaboração do projeto									
Qualificação									
Estudo piloto									
Aprovação do projeto pelo Comitê de Ética									
Registro do projeto no COCEPE									
Reserva dos animais no Biotério									
Aplicação prática									
Coleta de dados									
Análise estatística									
Revisão de literatura									
Conclusão									
Entrega/Defesa									

## REFERÊNCIAS

- ALBERS, R.; ANTOINE, J.M.; BOURDET-SICARD, R.; CALDER, P.C.; GLEESON, M.; LESOURD, B.; SAMARTÍN, S.; SANDERSON, I.R.; LOO, J.V.; DIAS, F.W.V.; WATZL, B. Markers to measure immunomodulation in nutrition intervention studies. **Br J Nutr.** 94: 452-481, 2005.
- ALDRED, S. Oxidative and nitrative changes seen in lipoproteins following exercise. **Atherosclerosis.** 192: 1-8, 2007.
- ANDRADE, P.M.M.; RIBEIRO, B.G.; CARMO, M.G.T. Papel dos lipídios no metabolismo durante o esforço. **MN-Metabólica.** 8(2): 80-88, 2006.
- AOI, W.; NAITO, Y.; YOSHIKAWA, T. Exercise and functional foods. **Nutr J.** 5(15): 1-8, 2006.
- ARAÚJO, G.G.; GOBATTO, C.A.; HIRATA, R.D.C.; HIRATA, M.H.; CAVAGLIERI, C.R.; VERLENGIA, R. Respostas fisiológicas para detector o overtraining. **Revista de Educação Física.** 19(2): 275-289, 2008.
- ARRUDA, M.; BAGANHA, R.J.; MOREIRA, R.A.C.; SANTOS, G.F.S.; TIBURZIO, A.S. Efeitos da utilização de bebida hidroeletrólítica sobre a glicemia durante uma aula de ciclismo indoor. **Movimento & Percepção.** 6(9): 95-108, 2006.
- BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Anal Biochem.** 72: 248-254, 1976.
- BRAUN, W.A.; von DUVILLARD, S.P. Influence of carbohydrate delivery on the immune response during exercise and recovery from exercise. **Nutrition.** 20: 645-650, 2004.
- BROOKS, G.A.; FAHEY, T.D.; WHITE, T.P.; BALDWIN, K.M. **Exercise physiology: human bioenergetics and its applications.** 3.ed. Mountain View: Mayfield, 1999. 890p.
- BROOKS, G.A.; MERCIER, J. The balance of carbohydrate and lipid utilization during exercise: the “crossover” concept. **J Appl Physiol.** 76: 2253-2261, 1994.
- CAMPBELL, C.; PRINCE, D.; BRAUN, M.; APPELEGATE, E.; CASAZZA, G.A. Carbohydrate – supplement form and exercise performance. **Int J Sport Nutr Exerc Metab.** 18: 179-190, 2008.

- CARLSON, L.A.; HEADLEY, S.; DeBRUIN, J.; TUCKOW, A.P.; KOCH, A.J.; KENEFICK, R.W. Carbohydrate supplementation and immune responses after acute exhaustive resistance exercise. **Int J Sport Nutr Exerc Metab.** 18: 247-259, 2008.
- CASTELL, L.M. Can glutamine modify the apparent immunodepression observed after prolonged, exhaustive exercise? **Nutrition.** 18: 371-375, 2002.
- CLOSE, G.L.; ASHTON, T.; CABLE, T.; DORAN, D.; NOYES, C.; McARDLE, F.; MACLAREN, D.P.M. Effects of dietary carbohydrate on delayed onset muscle soreness and reactive oxygen species after contraction induced muscle damage. **Br J Sports Med.** 39: 948-953, 2005.
- COSTALLAT, B.L.; MIGLIOLI, L.; SILVA, P.A.C.; NOVO, N.F.; DUARTE, J.L.G. Resistência à insulina com a suplementação de creatina em animais de experimentação. **Rev Bras Med Esporte.** 13(1): 22-26, 2007.
- COX, A.J.; PYNE, D.B.; COX, G.R.; CALLISTER, R.; GLEESON, M. Pre-exercise carbohydrate status influences carbohydrate-mediated attenuation of post-exercise cytokine responses. **Int J Sports Med.** 29: 1003-1009, 2008.
- DANTAS, J.A.; AMBIEL, C.R.; CUMAN, R.K.N.; BARONI, S.; BERSANI-AMADO, C.A. Valores de referência de alguns parâmetros fisiológicos de ratos do Biotério Central da Universidade Estadual de Maringá, estado do Paraná. **Acta Sci Health Sci.** 28(2): 165-170, 2006.
- DEVLIN, T.M. **Manual de bioquímica com correlações clínicas.** São Paulo: Editora Bliicher, 2007. 1186p.
- FANHANI, A.P.G.; FERREIRA, M.P. Agentes antioxidantes: seu papel na nutrição e saúde dos atletas. **SaBios-Rev Saúde e Biol.** 1(2): 33-41, 2006.
- FERREIRA, L.F.; REID, M.B. Muscle-derived ROS and thiol regulation in muscle fatigue. **J Appl Physiol.** 104: 853-860, 2008.
- FINAUD, J.; LAC, G.; FILAIRE, E. Oxidative stress: relationship with exercise and training. **Sports Med.** 36(4): 327-358, 2006.
- FOSCHINI, D.; PRESTES, J.; CHARRO, M.A. Relação entre exercício físico, dano muscular e dor muscular de início tardio. **Rev Bras Cineantropom Desempenho Hum.** 9(1): 101-106, 2007.
- FRANCISCO, T.D.; PITHON-CURI, T.C.; CURI, R.; GARCIA Jr.; J.R. Glutamina: metabolismo, destinos, funções e relação com o exercício físico. **Arq Ciênc Saúde.** 6(1): 81-88, 2002.

- FULLE, S.; PIETRANGELO, T.; MANCINELLI, R.; SAGGINI, R.; FANÒ, G. Specific correlations between muscle oxidative stress and chronic fatigue syndrome: a working hypothesis. **J Muscle Res Cell Motil.**, 2008.
- GARCIA Jr.; J.R.; PITHON-CURI, T.C.; CURI, R. Consequências do exercício para o metabolismo da glutamina e função imune. **Rev Bras Med Esporte.** 6(3): 99-107, 2000.
- GLADDEN, L.B. Lactate metabolism: a new paradigm for the third Millennium. **J Physiol.** 558(1): 5-30, 2004.
- GLEESON, M.; NIEMAN, D.C.; PEDERSEN, B.K. Exercise, nutrition and immune function. **J Sports Sci.** 22: 115-125, 2004.
- GOBATTO, C.A.; MELLO, M.A.R.; SIBUYA, C.Y.; AZEVEDO, J.R.M.; SANTOS, L.A.; KOKUBUN, E. Maximal lactate steady state in rats submitted to swimming exercise. **Comp Biochem Physiol.** 130: 21-27, 2001.
- GOMES, F.P. **Curso de estatística experimental.** 13.ed. Piracicaba: Nobel, 1990. 298p.
- GRECO, C.C.; OLIVEIRA, M.F.M.; CAPUTO, F.; PELARIGO, J.G.; DENADAI, B.S. Efeitos do desempenho aeróbio na máxima fase estável de lactato sanguíneo determinada em protocolo intermitente na natação. **Rev Bras Med Esporte.** 16(2): 130-133, 2010.
- HACKNEY, A.C.; BATTAGLINI, C. The overtraining syndrome: neuroendocrine imbalances in athletes. **Brazilian Journal of Biomotricity.** 34-44, 2007.
- HEMILÄ, H.; KAPRIO, J.; ALBANES, D.; VIRTAMO, J. Physical activity and the risk of pneumonia in male smokers administered vitamin E and  $\beta$ -carotene. **Int J Sports Med.** 27: 336-341, 2006.
- HOFFMAN, J.R.; RATAMESS, N.A.; ROSS, R.; SHANKLIN, M.; KANG, J.; FAIGENBAUM, A.D. Effect of a pre-exercise energy supplement on the acute hormonal response to resistance exercise. **J Strength Condit Research.** 22(3): 874-882, 2008.
- ILHAN, N.; KAMANLI, A.; OZMERDIVENLI, R.; ILHAN, N. Variable effects of exercise intensity on reduced glutathione, thiobarbituric acid reactive substance levels, and glucose concentration. **Archives of Medical Research.** 35: 294-300, 2004.
- JENTZSCH, A.M.; BACHMANN, H.; FÜRST, P.; BIESALSKI, H.K. Improved analysis of malondialdehyde in human body fluids. **Free Rad Biol Medic.** 20: 251-256, 1996.

- JUEL, C.; KLARSKOV, C.; NIELSEN, J.J.; KRUSTRUP, P.; MOHR, M.; BANGSBO, J. Effect of high intensity intermittent training on lactate and H<sup>+</sup> release from human skeletal muscle. **Am J Physiol Endocrinol Metab.** 286: E245-E251, 2004.
- KARACABEY, K.; SAYGIN, O.; OZMERDIVENLI, R.; ZORBA, E.; GODEKMERDAN, A.; BULUT, V. The effects of exercise on the immune system and stress hormones in sportswomen. **Neuroendocrinol Lett.** 26(4): 361-366, 2005.
- KIRK, R.W. **Atualização terapêutica veterinária: Pequenos animais.** São Paulo: Manole, 1984. 560p.
- KRISMAN, C.R. A method for the colorimetric estimation of glycogen with iodine. **Anal Biochem.** 4: 17-23, 1962.
- LAPIN, L.P.; PRESTES, J.; PEREIRA, G.B.; PALANCH, A.C.; CAVAGLIERI, C.R.; VERLENGIA, R. Respostas metabólicas e hormonais ao treinamento físico. **Revista Brasileira de Educação Física, Esporte, Lazer e Dança.** 2(4): 115-124, 2007.
- LEE, J.K.W.; MAUGHAN, R.J.; SHIRREFFS, S.M.; WATSON, P. Effects of milk ingestion on prolonged exercise capacity in young, healthy men. **Nutrition.** 24: 340-347, 2008.
- LEVINE, R.L.; GARLAND, D.; OLIVER, C.N.; AMIEI, A.; CLIMENT, I.; LENZ, A. Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. **Methods in Enzymology.** 186: 464-468, 1990.
- LIMA-SILVA, A.E.; FERNANDES, T.C.; OLIVEIRA, F.R.; NAKAMURA, F.Y.; GEVAERD, M.S. Metabolismo do glicogênio muscular durante o exercício físico: mecanismos de regulação. **Rev Nutr.** 20(4): 417-429, 2007.
- LIMA-SILVA, A.E.; OLIVEIRA, F.R.; GEVAERD, M.S. Mecanismo de fadiga durante o exercício físico. **Rev Bras Cineantropom Desempenho Hum.** 8(1): 105-113, 2006.
- MACHADO, P.R.L.; ARAÚJO, M.I.A.S.; CARVALHO, L.; CARVALHO, E.M. Mecanismos de resposta imune às infecções. **Arq Bras Dermatologia.** 79(6): 647-664, 2004.
- MALM, C.; EKBLÖM, Ö.; EKBLÖM, B. Immune system alteration in response to increased physical training during five day soccer training camp. **Int J Sports Med.** 25: 471-476, 2004.
- Manual sobre cuidados e usos de animais de laboratório. Institute of Laboratory Animal Resources Commission on Life Sciences National Research Council. Edição em português, Goiânia, Goiás, Brasil pela AAALAC e COBEA, 2003.

- McFARLIN, B.K.; HUTCHISON, A.T.; KUEHT, M.L. Knowledge of carbohydrate consumption does not alter natural killer cell activity following an acute bout of high-intensity aerobic exercise. **Appl Physiol Nutr Metab.** 33: 1007-1012, 2008.
- MILLARD-STAFFORD, W.G.L.; THOMAS, L.M.; DOYLE, J.A.; SNOW, T.; HITCHCOCK, K. Recovery from run training: efficacy of a carbohydrate-protein beverage? **Int J Sport Nutr Exerc Metab.** 15: 610-624, 2005.
- MOREIRA, A.; KEKKONEN, R.A.; DELGADO, L.; FONSECA, J.; KORPELA, R.; HAAHTELA, T. Nutritional modulation of exercise-induced immunodepression in athletes: a systematic review and meta-analysis. **European Journal of Clinical Nutrition.** 61: 443-460, 2007.
- MOREIRA, P.V.S.; TEODORO, B.G.; MAGALHÃES NETO, A.M. Bases neurais e metabólicas da fadiga durante o exercício. **Biosc J.** 24(1): 81-90, 2008.
- NASCIMENTO, C.R.V.; ARRUDA, S.F.M.; BACURAU, R.F.P.; NAVARRO, F. Dor muscular tardia: etiologia e tratamento. **Revista Brasileira de Prescrição e Fisiologia do Exercício.** 1(2): 90-99, 2007.
- NATALE, V.M.; BRENNER, I.K.; MOLDOVEANU, A.I.; VASILIOU, P.; SHEK, P.; SHEPHARD, R.J. Effect of three different types of exercise on blood leukocyte count during and following exercise. **Revista Paulista de Medicina.** 121(1): 9-14, 2003.
- NETO, J.M.F.A. Estudo de marcadores de estresse oxidativo em um triatleta durante o período competitivo. **Movimento & Percepção.** 9(13): 31-46, 2008.
- NEUMAYR, G.; LUDWICZEK, O.; HOERTNAGL, H.; PFISTER, R.; MITTERBAUER, G.; MOSCHEN, A.; NOVICK, D.; RUBINSTEIN, M.; TILG, H. The impact of prolonged strenuous endurance exercise on interleukin 18 and interleukin 18 binding protein in recreational cyclists. **Int J Sports Med.** 26: 836-840, 2005.
- NIEMAN, D.C.; DAVIS, J.M.; BROWN, V.A.; HENSON, D.A.; DUMKE, C.L.; UTTER, A.C.; VINCI, D.M.; DOWNS, M.F.; SMITH, J.C.; CARSON, J.; BROWN, A.; McANULTY, S.R.; McANULTY, L.S. Influence of carbohydrate ingestion on immune changes after 2 h of intensive resistance training. **J Appl Physiol.** 96: 1292-1298, 2004.
- OGONOVSKY, H.; SASVÁRI, M.; DOSEK, A.; BERKES, I.; KANEKO, T.; TAHARA, S.; NAKAMOTO, H.; GOTO, S.; RADÁK, Z. The effects of moderate, strenuous, and overtraining on oxidative stress markers and DNA repair in rat liver. **Can J Appl Physiol.** 30(2): 186-195, 2005.

- PEIXOTO, N.C.; PEREIRA, M.E. Effectiveness of ZnCl<sub>2</sub> in protecting against nephrotoxicity induced by HgCl<sub>2</sub> in newborn rats. **Ecotox Environ Safe**. 66: 441-446, 2007.
- PEREIRA, B. Radicais livres de oxigênio e sua importância para a funcionalidade imunológica. **Motriz**. 2(2): 71-80, 1996.
- PEREIRA, E.F.B.B.; BORGES, A.C. Influência da corrida como exercício aeróbio na melhora do condicionamento cardiorrespiratório. **Estudos, Goiânia**. 33(8): 573-588, 2006.
- PINHO, R.A.; ANDRADES, M.E.; OLIVEIRA, M.R.; PIROLA, A.C.; ZAGO, M.S.; SILVEIRA, P.C.L.; DAL-PIZZOL, F.; MOREIRA, J.C.F. Imbalance in SOD/CAT activities in rats skeletal muscles submitted to treadmill training exercise. **Cell Biology International**. 30: 848-853, 2006.
- POWERS, S.K.; HOWLEY, E.T. **Fisiologia do exercício: teoria e aplicação ao condicionamento e ao desempenho**. 5.ed. São Paulo: Manole, 2005. 576p.
- PRATT, C.W.; CORNELLY, K. **Bioquímica essencial**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. 716p.
- RADAK, Z.; CHUNG, H.Y.; KOLTAI, E.; TAYLOR, A.W.; GOTO, S. Exercise, oxidative stress and hormesis. **Ageing Research Reviews**. 7: 34-42, 2008.
- RADAK, Z.; KUMAGAI, S.; TAYLOR, A.W.; NAITO, H.; GOTO, S. Effects of exercise on brain function: role of free radicals. **Appl Physiol Metab**. 32: 942-946, 2007.
- ROBERGS, R.A.; GHIASVAND, F.; PARKER, D. Biochemistry of exercise – induced metabolic acidosis. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**. 287: R502-R516, 2004.
- ROGERO, M.M.; MENDES, R.R.; TIRAPEGUI, J. Aspectos neuroendócrinos e nutricionais em atletas com overtraining. **Arq Bras Endocrinol Metab**. 49(3): 359-368, 2005.
- ROMBALDI, A.J. **Alguns efeitos bioquímicos da ingestão de carboidrato líquido na realização de trabalho intermitente de alta intensidade em ratos**. 1996. 265f. Tese (Doutorado em Ciências do Movimento Humano) – Centro de Educação Física e Desportos, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria.
- ROMBALDI, A.J.; SAMPEDRO, R.M.F. Fatores a considerar na suplementação com soluções carboidratadas. **Rev Bras Ativ Fis Saude**. 6(1): 53-61, 2001.

- ROTH, E.; OEHLER, R.; MANHART, N.; EXNER, R.; WESSNER, B.; STRASSER, E.; SPITTLER, A. Regulative potential of glutamine – reaction to glutathione metabolism. **Nutrition**. 18: 217-221, 2002.
- SAHLIN, K.; SALLSTEDT, E-K.; BISHOP, D.; TONKONOGLI, M. Turning down lipid oxidation during heavy exercise-what is the mechanism? **J Physiol Pharmacology**. 59(7): 19-30, 2008.
- SANTOS, R.V.T.; CAPERUTO, E.C.; ROSA, L.F.B.P.C. Efeitos do aumento na sobrecarga de treinamento sobre parâmetros bioquímicos e hormonais em ratos. **Rev Bras Med Esporte**. 12(3): 145-149, 2006.
- SCHNEIDER, C.D.; OLIVEIRA, A.R. Radicais livres de oxigênio e exercício: mecanismos de formação e adaptação ao treinamento físico. **Rev Bras Med Esporte**. 10(4): 308-313, 2004.
- SILVEIRA, L.R.; HIRABARA, S.M.; LAMBERTUCCI, R.H.; LEANDRO, C.V.; FIAMONCINI, J.; PINHEIRO, C.H.J.; D'ANGELO, A.C.A.; BASSIT, R.A.; PITHON-CURI, T.C.; CURI, R. Regulação metabólica e produção de espécies reativas de oxigênio durante a contração muscular: efeito do glicogênio na manutenção do estado redox intracelular. **Rev Bras Med Esporte**. 14(1): 57-63, 2008.
- SIMPSON, R.J.; FLORIDA-JAMES, G.D.; COSGROVE, C.; WHYTE, G.P.; MACRAE, S.; PIRCHER, H.; GUY, K. High-intensity exercise elicits the mobilization of senescent T lymphocytes into the peripheral blood compartment in human subjects. **J Appl Physiol**. 103: 396-401, 2007.
- SOUZA, M.H.L.; ELIAS, D.O. Acidose láctica dos tipos A e B. **Perfusion Line**. 6(6): 2-4, 2008.
- SOUZA, C.F.; FERNANDES, L.C.; CYRINO, E.S. Produção de espécies reativas de oxigênio durante o exercício aeróbio e anaeróbio. **Rev Bras Cineantropom Desempenho Humano**. 8(2): 102-109, 2006.
- STEVENSON, E.; WILLIAMS, C.; McCOMB, G.; ORAM, C. Improved recovery from prolonged exercise following the consumption of low glycemic index carbohydrate meals. **Int J Sport Nutr Exerc Metab**. 15: 333-349, 2005.
- SUH, S-H.; PAIK, I-Y.; JACOBS, K.A. Regulation of blood glucose homeostasis during prolonged exercise. **Molecules and Cells**. 23(3): 272-279, 2007.
- TIMMONS, B.W.; TARNOPOLSKY, M.A.; BAR-OR, O. Sex-based effects on the distribution of NK cell subsets in response to exercise and carbohydrate intake in adolescents. **J Appl Physiol**. 100: 1513-1519, 2006.

- VAN LOON, L.J.C.; GREENHAFF, P.L.; CONSTANTIN-TEODOSIU, D.; SARIS, W.H.M.; WAGENMAKERS, A.J.M. The effects of increasing exercise intensity on muscle fuel utilization in humans. **J Physiol**. 536(1): 295-304, 2001.
- VIEIRA, S.; HOFFMANN, R. **Estatística experimental**. São Paulo: Atlas, 1989. 238p.
- VOET, D.; VOET, J. **Bioquímica**. 3.ed. Porto Alegre: Artmed, 2006. 1596p.
- VOLTARELLI, F.A.; GOBATTO, C.A.; MELLO, M.A.R. Determination of anaerobic threshold in rats using the lactate minimum test. **Braz J Med Biol Res**. 35(11): 1389-1394, 2002.
- WOLF, B.W.; GARLEB, K.A.; CHOE, Y.S.; HUMPHREY, P.M.; MAKI, K.C. Pullulan is a slowly digested carbohydrate in human. **J Nutr**. 133: 1051-1055, 2003.
- WU, C.; WILLIAMS, C. A low glycemic index meal before exercise improves endurance running capacity in men. **Int J Sport Nutr Exerc Metab**. 16: 510-527, 2006.
- ZANELLA, A.M.; SOUZA, D.R.S.; GODOY, M.F. Influência do exercício físico no perfil lipídico e estresse oxidativo. **Arq Ciênc Saúde**. 14(2): 107-112, 2007.

**RELATÓRIO DA COLETA DE DADOS  
REALIZADA NO LABORATÓRIO DE  
BIOQUÍMICA E FISIOLOGIA DO  
EXERCÍCIO DA ESEF/UFPel (LABFex)**

**Mestranda: Cátia Fernandes Leite  
Orientador: Dr. Airton José Rombaldi**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS  
ESCOLA SUPERIOR DE EDUCAÇÃO FÍSICA  
CURSO DE MESTRADO EM EDUCAÇÃO FÍSICA**

**Relatório da coleta de dados realizada no Laboratório de  
Bioquímica e Fisiologia do Exercício da ESEF/UFPel (LABFex)**

Dano oxidativo e atividade imunológica de ratos treinados,  
suplementados com maltodextrina

**Cátia Fernandes Leite**

**Orientador:** Prof. Dr. Airton José Rombaldi

**Co-orientadora:** Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Cláudia Pinho Hartleben

Pelotas, RS - Brasil

2011

## **1. Introdução**

No ano de 2009, com meu ingresso no Curso de Mestrado em Educação Física da Universidade Federal de Pelotas, na Linha de Pesquisa em Atividade Física, Nutrição e Saúde, deu-se início a uma nova forma de pesquisa utilizando animais como modelo biológico (*Rattus norvegicus* – Wistar). Desta maneira, o presente relatório de coleta de dados foi redigido de maneira diferenciada dos demais relatórios até então elaborados por mestrandos integrantes desta Linha de Pesquisa.

### **1.1 Meta**

Com objetivo de verificar as adaptações bioquímicas e imunológicas decorrentes de um programa de exercício físico aeróbio em carga de treinamento correspondente ao Estado Estável Máximo de Lactato (EEML) ou de um programa de exercício físico de alta intensidade (carga de treinamento acima do EEML, porém inferior ao consumo máximo de oxigênio -  $VO_2max$ ) se utilizou sobrepesos de chumbo de 5% ou 10% do peso corporal de cada roedor. Verificou-se, também, se a utilização de solução carboidratada (suplementação permanente com maltodextrina) possibilitaria modificações quantitativas nas variáveis analisadas. Neste sentido, este estudo apresentou um design fatorial 3x2 - animais com três condições de treinamento (sedentários, treinados em exercício aeróbio e treinados em exercício de alta intensidade) e duas condições de suplementação (com maltodextrina x água pura) e uma análise multivariada.

Os resultados deste estudo poderão servir para ampliar a compreensão dos processos adaptativos do desempenho esportivo sob manifestações inflamatórias em função do excesso de treinamento (overtraining) sofrido por atletas de diferentes níveis de competição, além de contribuir com a área da nutrição esportiva. Isto será possível, por tratar-se de animais mamíferos, não há impedimentos que os resultados deste estudo sejam extrapolados para humanos, com óbvias restrições. Considerando as restrições, o próximo passo será realizar este estudo com humanos.

O relatório de coleta de dados realizada no Laboratório de Bioquímica e Fisiologia do Exercício descreve o sistema de aprovação do projeto e reserva dos animais, o trabalho laboratorial, a coleta final dos dados e as determinações bioquímicas e imunológica.

## **2. Aprovação do Projeto e Reserva dos Animais**

Antes da reserva dos animais no Biotério Central da UFPel o projeto de dissertação passou por duas aprovações e um cadastro. A primeira aprovação do projeto foi realizada pelo Médico Veterinário responsável pelo Biotério Central da UFPel. Após, esta aprovação com carta de liberação da execução deste trabalho, este documento foi anexado aos demais exigidos para cadastro no protocolo da UFPel e então encaminhado para aprovação na Comissão de Ética em Experimentação Animal (CEEA/UFPel). O projeto de dissertação passou por duas reavaliações da CEEA/UFPel. Com a incorporação dos documentos e ajustes necessários o projeto foi aprovado por esta Comissão sob número de processo 5873/2009.

Logo após a aprovação do projeto pela CEEA/UFPel, foi encaminhado para cadastro no Conselho de Ensino, Pesquisa e Extensão - COCEPE/UFPel. De posse do número de cadastro no COCEPE/UFPel foi realizada a reserva dos animais no Biotério Central da UFPel. O procedimento legal para se fazer reserva de animais no Biotério são os números de registro do projeto na CEEA e no COCEPE e um professor com título de doutor como responsável pela execução do mesmo. Entre a qualificação que ocorreu em setembro de 2009 e a reserva dos animais no Biotério se passaram sete meses. Em abril foi feito o pedido de reserva dos animais com prazo previsto de entrega no LABFex para o mês de julho pois, os animais deveriam ser entregues com 60 dias de idade.

## **3. Trabalho Laboratorial**

Os animais ao chegarem ao LABFex (em setembro de 2010, sexta-feira) foram distribuídos em gaiolas para ratos nas dimensões de 41x34x16cm em polipropileno autoclavável e tampa em arame galvanizado. A princípio, os animais foram alojados em grupos de cinco por gaiola, mas para evitar qualquer tipo de estresse decorrente de fatores ambientais, conforme foi aumentando o tamanho e o peso corporal de cada roedor, os animais passaram a ser distribuídos em número de dois por gaiola. As gaiolas coletivas foram identificadas conforme o grupo experimental e data de eutanásia de cada subgrupo (ver quadro da página 60).

Uma semana após (para adaptação ao ambiente novo), os animais foram pesados e marcados na cauda com caneta (marcador permanente colorido) para

identificação através de símbolos que representavam seus respectivos grupos experimentais. No dia seguinte, se confeccionou as sobrecargas que seriam utilizadas durante a primeira semana de adaptação ao meio líquido. Este processo de pesagem e remarcação dos animais, bem como confecção de novas sobrecargas era realizado todas as segundas- e terças-feiras até a última semana de experimento. Além destas tarefas, nas terças-feiras, as gaiolas com os animais eram retiradas dos locais de alocação para limpeza geral do laboratório. A cada dois dias as gaiolas, mamadeiras e bicos eram removidos para limpeza e a maravalha trocada. Todos os dias da semana eram feitas as reposições da ração e da água para beber. A maravalha e o lixo de descarte eram recolhidos em sacos leitosos e colocados nos coletores de resíduos. Sempre que necessário eram feitos pedidos de reposição de maravalha e ração ao Biotério Central.

Nos dias de treinamento dos animais (que ocorreu de quarta-feira a domingo) as tarefas laboratoriais começavam com o aquecimento da água do tanque de natação coletiva. Após, os animais dos grupos treinados eram colocados na água para realizarem um breve aquecimento de natação, em torno de dois a três minutos, e então os animais eram rapidamente retirados do tanque para colocação das sobrecargas e administração das soluções esportivas (solução com maltodextrina ou solução com água pura). Em seguida os animais eram recolocados no tanque para realização do exercício de natação. Depois que todos os animais dos grupos treinados terminassem sua sessão de treinamento diário, o nível da água do tanque era reduzido até ficar a 10cm do fundo do tanque e os animais dos grupos sedentários eram suplementados (solução com maltodextrina ou com água pura) e colocados no tanque para realização do banho de imersão por pelo menos 10min. Este procedimento laboratorial durante os dias de treinamento dos animais teve uma duração de 12 horas.

As tarefas laboratoriais envolvendo os animais começaram na primeira sexta-feira do mês de setembro e com término no primeiro domingo do mês de dezembro. Para não correr o risco de perder grupos experimentais durante o período de treinamento e eutanásia dos animais, dividiram-se os grupos experimentais em subgrupos conforme a data de eutanásia dos roedores. Houve um intervalo de uma semana de diferença para cada dia de sacrifício e em cada grupo experimental (n=12) os subgrupos foram construídos com quatro animais. Portanto, cada grupo

experimental foi dividido em três subgrupos com uma semana de diferença até o dia do sacrifício, conforme mostra o quadro abaixo.

Quadro 1: Identificação dos subgrupos experimentais conforme dia de eutanásia.

<b>SUBGRUPO 1</b>			
Grupo experimental (n=4)	Período de adaptação	Período de treinamento e suplementação	Dia da eutanásia (total de 24 animais)
Aeróbio não suplementado; Aeróbio suplementado; Alta intensidade não suplementado; Alta intensidade suplementado; Sedentário não suplementado; Sedentário suplementado.	Começo dia 15 de setembro de 2010. Final dia 26 de setembro de 2010.	Começo dia 29 de setembro de 2010. Final dia 21 de novembro de 2010.	21 de novembro de 2010.
<b>SUBGRUPO 2</b>			
Grupo experimental (n=4)	Período de adaptação	Período de treinamento e suplementação	Dia da eutanásia (total de 24 animais)
Aeróbio não suplementado; Aeróbio suplementado; Alta intensidade não suplementado; Alta intensidade suplementado; Sedentário não suplementado; Sedentário suplementado.	Começo dia 22 de setembro de 2010. Final dia 3 de outubro de 2010.	Começo dia 6 de outubro de 2010. Final dia 28 de novembro de 2010.	28 de novembro de 2010.
<b>SUBGRUPO 3</b>			
Grupo experimental (n=4)	Período de adaptação	Período de treinamento e suplementação	Dia da eutanásia (total de 24 animais)
Aeróbio não suplementado; Aeróbio suplementado; Alta intensidade não suplementado; Alta intensidade suplementado; Sedentário não suplementado; Sedentário suplementado.	Começo dia 29 de setembro de 2010. Final dia 10 de outubro de 2010.	Começo dia 13 de outubro de 2010. Final dia 5 de dezembro de 2010.	5 de dezembro de 2010.

### Perdas

No final da primeira semana de adaptação ao meio líquido, durante exercício de natação ainda de maneira contínua, um rato do grupo de alta intensidade suplementado morreu no tanque durante a sessão de exercício de natação. Na

sexta e oitava semana de experimento morreu no tanque, durante a natação, um rato de cada grupo experimental - aeróbio suplementado e aeróbio não suplementado, totalizando três perdas no decorrer dos períodos de adaptação e treinamento. Assim, concluiu-se a etapa experimental deste estudo com um total de 69 ratos (n=12 para os grupos sedentários; n=11 para os grupos aeróbios; n=11 e n=12 para os grupos de alta intensidade suplementados e não suplementados, respectivamente).

#### **4. Coleta final dos dados (eutanásia)**

A coleta final dos dados deste estudo foi realizada nos dias das eutanásias dos animais correspondentes a cada subgrupo. Participaram desta etapa seis estudantes de graduação em Educação Física. Quatro estudantes já tinham experiência prévia em coleta sanguínea de animais de laboratório e ficaram responsáveis pela eutanásia e coleta dos tecidos.

Nos dias das eutanásias os animais dos grupos sedentários receberam as suas soluções líquidas (maltodextrina ou água pura) às 7h15min. Após a administração das soluções, os animais foram colocados em tanque com água rasa para realização do banho de imersão. Em seguida retirou-se a ração destes animais e eles permaneceram em repouso por uma hora. A eutanásia destes animais procedeu-se após este período.

Os animais dos grupos aeróbio suplementado e não suplementado realizaram a última sessão de treinamento na parte da manhã obedecendo às regras para suplementação da mesma forma que já vinha sendo realizada. A administração da solução carboidratada com maltodextrina ou a água pura, bem como a realização do exercício de exaustão dos animais dos grupos de alta intensidade foram realizadas no turno da tarde (Apêndice 1).

Nos dias das eutanásias foram realizadas coletas sanguíneas (sangue total com EDTA e sem o anticoagulante para obtenção do soro) e de tecidos hepático, muscular (gastrocnêmio) e renal.

O sangue total com EDTA (1mL) foi armazenado entre 2 a 4°C para análise da contagem total e diferencial de leucócitos e do conteúdo de hemoglobina. Alíquotas contendo em torno de 3mL de soro foram colocadas em microtubos tipo *ependorf* de 1,5mL cada e armazenados em dois *racks* para armazenamento de microtubos. Um dos *racks* contendo uma das amostras sorológicas (1,5mL) ficou

armazenado entre 2 a 4°C para as seguintes determinações bioquímicas: triglicérides, colesterol total, colesterol HDL, colesterol LDL, glicose, proteínas totais, ácido úrico, creatinina, transaminase oxalacética, transaminase pirúvica. O segundo *rack* foi armazenado a 20°C negativos para posterior determinação bioquímica de dano oxidativo.

Amostras duplicatas dos tecidos hepático, muscular e renal foram pesadas, colocadas em tubos de ensaio e armazenadas em freezer até a extração e quantificação do glicogênio (no máximo em cinco dias). Concluída a coleta de todos os tecidos, o laboratório foi limpo e procedeu-se a determinação do conteúdo de hemoglobina e feito os esfregaços sanguíneos para a determinação da contagem diferencial dos leucócitos. Também se registrou o tempo que os animais do grupo de alta intensidade levaram até chegar à exaustão (em segundos), a concentração de lactato e o peso inicial e final dos 69 animais.

## **5. Determinações Bioquímicas e Imunológicas**

Na redação final deste estudo de mestrado não serão utilizadas todas as análises bioquímicas efetuadas. Mas, o processo de determinação das variáveis não citadas seguiu as determinações dos *kits* da Labtest (Lagoa Santa/MG/Brasil).

Na segunda-feira, após a eutanásia procedeu-se as determinações da contagem total de leucócitos e a coloração das lâminas com os esfregaços sanguíneos para a determinação da contagem diferencial de leucócitos a ser realizada na sexta-feira. A contagem total e diferencial de leucócitos foi realizada no laboratório do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia localizado no Campus Capão do Leão da UFPel. A contagem total dos leucócitos foi realizada na parte da manhã e início da tarde. Ainda na segunda-feira, com início às 18h e término às 6h da manhã de terça-feira, realizaram-se as determinações da glicemia, triglicérides, proteínas totais, ácido úrico, creatinina, colesterol total e colesterol HDL (no LABFex).

Na terça-feira, às 16h, iniciaram-se a extração e quantificação do conteúdo de glicogênio hepático e muscular. Na quarta-feira, às 18h, iniciaram-se a extração e quantificação do conteúdo de glicogênio muscular (das amostras restantes) e renal, e as determinações de transaminase pirúvica. Na quinta-feira, realizaram-se as análises de transaminase pirúvica (amostras restantes) e de transaminase oxalacética. Na sexta-feira, procedeu-se a determinação da contagem diferencial de

leucócitos com início às 9h e termino no início da tarde. Este processo de determinações bioquímicas e imunológica foi seguido durante as três semanas de sacrifício dos animais. Na última semana, após o sacrifício dos animais, começaram as determinações bioquímicas de dano oxidativo. A determinação de peroxidação lipídica (dosagem de MDA) dos 69 animais teve início às 16h de quinta-feira e termino às 6h de sexta-feira. A Dosagem de proteína carbonil (oxidação protéica) foi realizada em três dias consecutivos (sábado das 9h às 20h, domingo das 12h às 18h e segunda-feira das 17h às 23h).

Após, todas as determinações bioquímicas terem sido realizadas, o LABFex foi limpo, o lixo e os reagentes para descarte removidos em recipientes apropriados e identificados e depositados nos coletores. As carcaças dos animais foram congeladas em material apropriado e descartadas no dia de recolhimento pela AMBIENTUUS – Tecnologia Ambiental Ltda (firma especializada e contratada pela UFPel para recolhimento e incineração de materiais).

Os dados foram registrados em uma planilha do Microsoft Office Excel para serem transportados para o programa estatístico que foi utilizado para obtenção dos resultados do presente estudo.

# ARTIGO

**Mestranda: Cátia Fernandes Leite**

**Orientador: Dr. Airton José Rombaldi**

TÍTULO: DANO OXIDATIVO E ATIVIDADE IMUNOLÓGICA DE RATOS  
TREINADOS, SUPLEMENTADOS COM MALTODEXTRINA

TITLE: OXIDATIVE DAMAGE AND IMMUNE ACTIVITY IN TRAINED RATS  
SUPPLEMENTED WITH MALTODEXTRIN

Este artigo será submetido à Revista Brasileira de Medicina do Esporte. As normas de publicação deste periódico estão no Anexo 2.

DANO OXIDATIVO E ATIVIDADE IMUNOLÓGICA DE RATOS TREINADOS,  
SUPLEMENTADOS COM MALTODEXTRINA

OXIDATIVE DAMAGE AND IMMUNE ACTIVITY IN TRAINED RATS  
SUPPLEMENTED WITH MALTODEXTRIN

Cátia Fernandes Leite<sup>1</sup>  
Airton José Rombaldi<sup>1,2</sup>  
Claudia Pinho Hartleben<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Curso de Mestrado em Educação Física da Escola Superior de Educação Física, Universidade Federal de Pelotas, Brasil.

<sup>2</sup> Grupo de Estudos em Epidemiologia da Atividade Física, Universidade Federal de Pelotas, Brasil.

<sup>3</sup> Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Universidade Federal de Pelotas - Pelotas, Brasil.

**Endereço para contato**

Airton José Rombaldi

Escola Superior de Educação Física - Universidade Federal de Pelotas

Rua Luiz de Camões 625 – CEP 96055-630, Pelotas, RS, Brasil

Fone (fax): 53 3273-2752 – E-mail: [rombaldi@ufpel.tche.br](mailto:rombaldi@ufpel.tche.br)

## RESUMO

**Introdução:** A fadiga pode ser causada pela depleção de carboidrato e pela ação das espécies reativas de oxigênio. Assim, carboidratos são reconhecidos como importantes para melhorar o desempenho, minimizar a queda na atividade imunológica e reduzir o estresse oxidativo. **Objetivo:** verificar a ocorrência de dano oxidativo e alterações nas concentrações de leucócitos sanguíneos em ratos treinados e sedentários, suplementados ou não com maltodextrina. **Materiais e Métodos:** ratos machos Wistar (60 dias) foram divididos em seis grupos: sedentários não suplementados (n=12) e suplementados (n=12); treinados em EEML - Estado Estável Máximo de Lactato - não suplementados (n=11) e suplementados (n=11); treinados em alta intensidade não suplementados (n=12) e suplementados (n=11). O protocolo de treinamento consistiu de 8 semanas de natação em padrão contínuo em EEML (60min.dia<sup>-1</sup>) ou intermitente (2 períodos de 30min, com intervalo de 10min), com sobrecargas correspondentes a 5% e 10% do peso corporal, respectivamente. Durante 37 dias os animais foram suplementados com uma dose diária de 0,48g.kg<sup>-1</sup> de maltodextrina dissolvida em água ou receberam água pura. As concentrações de lactato sanguíneo, conteúdo de glicogênio hepático e muscular, peroxidação lipídica, oxidação protéica e contagem total e diferencial de leucócitos foram analisadas. **Resultados:** apesar da falta de significância estatística na concentração de malondialdeído e na contagem total e diferencial de leucócitos entre os grupos experimentais, ambos os modelos de exercício impuseram aumentos nas concentrações de proteína carbonil (p<0,001). O exercício aeróbio e a suplementação com maltodextrina proporcionaram aumento no conteúdo de glicogênio muscular quando comparado aos grupos sedentários recebendo água (p=0,007) ou com maltodextrina (p=0,008). **Conclusões:** Os exercícios físicos não ocasionaram danos nas camadas lipídicas, nem alterações nas concentrações de leucócitos circulantes; entretanto, ambos os padrões de treinamento proporcionaram importantes perdas proteicas. A suplementação com maltodextrina foi efetiva ao poupar os estoques de glicogênio muscular no exercício aeróbio. **Palavras-chave:** condicionamento, fadiga muscular, células brancas, estresse oxidativo, ratos Wistar.

## ABSTRACT

**Introduction:** Fatigue can be caused by depletion of carbohydrates and by the action of reactive oxygen species. Thus, carbohydrates are recognized as important to improve performance, minimize the decline in immune activity and reduce oxidative stress. **Objective:** To assess the occurrence of oxidative damage and abnormal levels of blood leukocytes in trained and sedentary rats supplemented with maltodextrin or water. **Methods:** Male Wistar rats (60 days) were divided into six groups: sedentary non-supplemented (n = 12) and supplemented (n = 12), trained in EEML - Maximum Lactate Steady State - not supplemented (n = 11) and supplemented (n = 11), trained at high intensity non-supplemented (n = 12) and supplemented (n = 11). The training protocol consisted of 8 weeks of swimming in a continuous pattern in EEML (60min.day<sup>-1</sup>) or intermittent (two periods of 30 minutes, with an interval of 10min), with loads corresponding to 5% and 10% of body weight, respectively. During 37 days the animals were supplemented with a daily dose of 0.48 g.kg<sup>-1</sup> maltodextrin dissolved in water or pure water. Concentrations of blood lactate, hepatic glycogen content and muscle lipid peroxidation, protein oxidation and total and differential leukocytes were measured. **Results:** Despite the lack of statistical significance in malondialdehyde concentration and total and differential count of leukocytes between the groups, both exercise models have resulted in increases in protein carbonyl (p<0.001). Aerobic exercise and supplementation with maltodextrin resulted in increased muscle glycogen content when compared to sedentary groups receiving water (p=0.007) or maltodextrin (p=0.008). **Conclusions:** The exercise did not cause damage to the lipid layers or abnormal levels of circulating leukocytes, however, both standards of training provided important protein loss. Maltodextrin supplementation was effective in sparing muscle glycogen stores during aerobic exercise.

**Keywords:** conditioning, muscular fatigue, white blood cells, oxidative stress, Wistar rats.

## 1. INTRODUÇÃO

A fadiga é causada por complexas modificações metabólicas que ocorrem no músculo esquelético durante o exercício. Estas mudanças variam dependendo do padrão e duração do recrutamento muscular e podem incluir, entre outros fatores, a acidose metabólica e a depleção de substratos<sup>(1)</sup>. A ação das espécies reativas de oxigênio - EROs, cujo acúmulo derivam do músculo em contração, em conjunto com outras perturbações, também, promovem a fadiga<sup>(1)</sup>. Existe uma forte associação entre a queda dos estoques intramusculares de glicogênio e o aumento na concentração de EROs na indução da fadiga muscular<sup>(2)</sup>. Em decorrência deste fato, os radicais livres produzidos durante o exercício representam um importante papel na indução e propagação da inflamação pós-exercício que pode aumentar as lesões celulares<sup>(3)</sup>.

A hipoglicemia ocasionada durante o exercício também resulta em elevada resposta ao estresse e a uma associada imunossupressão<sup>(4)</sup>. Além disso, o atleta que se exercita em estado hipoglicêmico tem maior perturbação em vários aspectos da função imunológica<sup>(5)</sup>. Neste sentido, um dos principais motivos para a utilização de suplementação carboidratada se apóia na influência do carboidrato (CHO) sobre as células de defesa minimizando a supressão transitória da função imune observada durante o exercício físico<sup>(6)</sup>. Para tanto, suplementações com maltodextrina são desejáveis, na medida em que não tem gosto adocicado e sua palatabilidade é mais bem aceita do que soluções com outras fontes de CHOs que são mais doces<sup>(7)</sup>. A maltodextrina é um polímero que normalmente provoca uma alta resposta glicêmica<sup>(8)</sup> e por ser um CHO complexo é assimilado mais lentamente que os monossacarídeos<sup>(7)</sup>.

Diante do exposto, sendo o CHO um nutriente importante para reduzir a ocorrência de estresse oxidativo decorrente do exercício físico<sup>(2)</sup>, retardar a acidose metabólica, melhorar o desempenho e minimizar a queda na atividade imunológica e, como ainda não há consenso na literatura sobre o tipo e quantidade de carboidrato que melhor atuam na concentração sanguínea de células imunes<sup>(9,10,11,12)</sup>, há necessidade de estudos adicionais na área. Neste sentido, o objetivo deste estudo foi verificar a ocorrência de dano oxidativo e as alterações nas concentrações de leucócitos sanguíneos em ratos treinados e sedentários, suplementados com maltodextrina ou que receberam água pura.

## 2. MATERIAIS E MÉTODOS

Foram utilizados 69 ratos machos, da linhagem Wistar com 60 dias e pesando no início do experimento entre 199-409 gramas. Os animais provenientes do Biotério da Universidade Federal de Pelotas (UFPel) foram alimentados com ração balanceada padrão (Nuvilab<sup>®</sup> CR1), água “ad libitum” e distribuídos em gaiolas coletivas. A temperatura ambiente foi controlada entre 21-25°C e fotoperíodo de 12h claro e 12h escuro.

Os animais foram transferidos para o Laboratório de Bioquímica e Fisiologia do Exercício da Universidade Federal de Pelotas (LABFex/UFPel), pesados e distribuídos, aleatoriamente, em seis grupos: sedentários não suplementados (n=12) e suplementados (n=12); treinados em EEML - Estado Estável Máximo de Lactato - não suplementados (n=11) e suplementados (n=11); treinados em alta intensidade não suplementados (n=12) e suplementados (n=11).

O período de treinamento foi de dez semanas, sendo as duas primeiras de adaptação ao meio líquido (cinco vezes por semana) com sobrecargas progressivas e em tanque coletivo com água a temperatura de  $30\pm 1^\circ\text{C}$ . As oito semanas subsequentes foram de exercícios de natação, cinco dias consecutivos por semana e 60min por sessão, de forma contínua ou intermitente (2 períodos de 30min, com 10min de intervalo, sendo a duração do exercício e do repouso de 15seg). O experimento foi realizado no ciclo claro entre as 18h00min e 6h00min. As sobrecargas utilizadas foram as correspondentes a 5% do peso corporal para o exercício de padrão contínuo em EEML (aeróbio) ou de 10% do peso corporal para o exercício intermitente, considerada carga de treinamento de alta intensidade<sup>(13)</sup>.

O peso corporal dos animais foi monitorado todas as segundas-feiras e feita a correção da sobrecarga a partir da alteração no peso. Os animais dos grupos sedentários foram colocados em tanque com água rasa, em profundidade de 10cm (banho de imersão) a temperatura de  $30\pm 1^\circ\text{C}$ , por 15min, 5 dias consecutivos por semana e foram usados como controles. Após cada sessão de treinamento de natação, os roedores foram secos e colocados em ambiente com temperatura entre 21 e 25°C para evitar complicações fisiológicas provenientes do frio e da umidade. A figura 1 apresenta um resumo do período de adaptação, treinamento e suplementação.

No último dia do experimento, os animais dos grupos treinados em alta intensidade não suplementados e suplementados nadaram até a exaustão. A

exaustão foi determinada quando os animais permaneceram submersos por um período superior a 30 segundos<sup>(14)</sup>. O exercício até a exaustão foi realizado com o objetivo de verificar o efeito do exercício anaeróbio na exaustão sobre as variáveis dependentes deste estudo.

Os animais suplementados dos grupos sedentário, treinado em EEML e treinado em alta intensidade foram suplementados através de tubo gástrico (“gavage”) com solução carboidratada líquida a 12% (m/v) de maltodextrina dissolvida em água destilada<sup>(14)</sup>. A dose de carboidrato administrada foi de 0,48g.Kg<sup>-1</sup> de peso, em um volume de 1mL para 250g de peso animal, e a cada 5g de peso superior ou inferior ao peso corporal base, o volume aumentou ou diminuiu em 0,02mL. As soluções foram administradas após os animais serem submetidos a aquecimento prévio de natação por 2min. Os ratos foram suplementados cinco vezes por semana, durante o período de treinamento, por 37 dias. Os animais não suplementados dos grupos sedentário, treinado em EEML e treinado em alta intensidade receberam somente água pura utilizando-se a mesma técnica dos grupos suplementados.

A eutanásia ocorreu no último dia de treinamento, imediatamente após as sessões de exercício aeróbio ou exercício de exaustão ou após uma hora de repouso depois de efetuada a administração da solução carboidratada ou administração de água pura para os animais dos grupos sedentários, sendo coletadas amostras sanguíneas e de tecidos hepático e muscular (músculo gastrocnêmio, porções branca e vermelha). Foram obtidos em torno de 1mL de sangue total com o anticoagulante EDTA para a realização da análise da contagem total e diferencial de leucócitos, 25µL de sangue total sem anticoagulante para determinação da concentração de lactato e outros 3mL de sangue total que foi imediatamente centrifugado a 3000rpm por 10min para obtenção do soro. Alíquotas deste material recém obtido foram armazenadas à -20°C para posterior análise de espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS – malondialdeído) e proteína carbonil. As amostras de fígado e músculo foram processadas para a dosagem de glicogênio (em até 5 dias). A concentração de lactato sanguíneo foi determinada no sangue total através do equipamento ACCUSPORT® (Boehringer-Mannheim, Alemanha).

A peroxidação lipídica foi estimada pela medida de TBARS conforme modificações do método de Jentzsch et al<sup>(15)</sup>, pela quantificação de malondialdeído

(MDA) por espectrofotômetro à 532nm. A dosagem de proteína carbonil foi feita conforme as modificações do método de Levine et al<sup>(16)</sup>. A intensidade da cor do sobrenadante foi medida usando espectrofotômetro em 370nm e zerando o aparelho com 1,5mL de SDS 2%. A proteína foi determinada de acordo com Bradford<sup>(17)</sup> utilizando albumina sérica bovina como proteína padrão. Em relação aos níveis de glicogênio hepático e muscular, a extração e processamento dos tecidos foram realizados como descrito por Peixoto & Pereira<sup>(18)</sup>, sendo o conteúdo do glicogênio determinado conforme o método de Krisman<sup>(19)</sup>. O conteúdo de glicogênio dos tecidos foi expresso como mg de glicogênio por 100mg de tecido. A contagem total e diferencial de leucócitos foi conduzida de acordo com a técnica adaptada de Dantas et al<sup>(20)</sup>.

A análise estatística foi conduzida no pacote estatístico STATISTICA para Windows, versão 8, da Statsoft. Quando as variáveis seguiram a curva normal, foi empregada a análise de variância fatorial para a comparação entre as médias. Quando o F foi significativo, para localizar as diferenças usou-se o teste de Fisher. Para as variáveis que apresentaram comportamento não paramétrico, se utilizou o teste Kruskal-Wallis. Os valores foram expressos como médias e desvio-padrão, sendo adotado o nível de significância de  $p < 0,05$ .

Este estudo foi realizado de acordo com as normas sugeridas pelo Comitê Brasileiro de Experimentação Animal e Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório (COBEA/SBCAL) e aprovado pela Comissão de Ética em Experimentação Animal (CEEAA) da UFPel (Processo número 5873/2009).

### 3. RESULTADOS

Na tabela 1 estão apresentados os dados referentes à descrição das variáveis dependentes do presente estudo. As médias e desvio padrão do peso corporal inicial e final dos animais foram diferentes ( $p < 0,05$ ). Após oito semanas de treinamento e suplementação não ocorreram diferenças estatísticas no peso corporal final entre os grupos experimentais ( $p > 0,05$ ).

O treinamento físico de padrão aeróbio contínuo sob carga de EEML ou de padrão anaeróbio de alta intensidade e a utilização de suplementação carboidratada associada ao uso de água pura não ocasionaram diferenças estatísticas significativas ( $p > 0,05$ ) nas concentrações de malondialdeído (MDA) comparadas aos animais dos grupos controles (sedentários que receberam água pura e sedentários

suplementados com maltodextrina) (Tabela 2). Porém, ao final do período experimental ambos os modelos de treinamento físico impuseram aumento significativo nas concentrações de proteína carbonil ( $p < 0,001$ ) (Tabela 2). A utilização de suplementação carboidratada não alterou as concentrações de proteína carbonil em relação ao uso de água pura ( $p > 0,05$ ).

Na tabela 3 estão apresentados os dados referentes às concentrações de células sanguíneas brancas. Não foram observadas diferenças estatísticas significativas na contagem total e diferencial de leucócitos entre os seis grupos experimentais.

Os grupos experimentais de ratos Wistar treinados em exercício aeróbio sob EEML que receberam água pura ou foram suplementados com maltodextrina apresentaram concentrações de glicogênio hepático significativamente menor ( $p \leq 0,02$ ) do que o grupo experimental sedentário suplementado com maltodextrina. Ratos Wistar treinados em exercício anaeróbio de alta intensidade e que receberam água pura apresentaram valores significativamente menores ( $p = 0,02$ ) na concentração de glicogênio do músculo gastrocnêmio do que ratos treinados em exercício aeróbio sob EEML suplementados com maltodextrina. Animais treinados em exercício aeróbio sob EEML suplementados com maltodextrina apresentaram maiores concentrações de glicogênio do músculo gastrocnêmio do que ratos sedentários que receberam água ( $p = 0,007$ ) ou suplementados com maltodextrina ( $p = 0,008$ ) (Tabela 4).

Na tabela 5, estão apresentados os dados referentes aos efeitos do treinamento e de suplementação carboidratada sobre marcadores de desempenho físico em ratos Wistar. Houve um aumento significativo ( $p < 0,001$ ) nas concentrações de lactato sanguíneo entre os animais treinados em exercício anaeróbio de alta intensidade comparado aos animais treinados em exercício aeróbio sob EEML. Ratos Wistar treinados em exercício anaeróbio de alta intensidade também apresentaram concentração de lactato sanguíneo significativamente maior do que o grupo de animais sedentários ( $p < 0,001$ ). Não foi identificada diferença entre os grupos experimentais que receberam água ou suplementados com maltodextrina tanto para a concentração de lactato sanguíneo quanto para o tempo decorrido até a exaustão.

#### 4. DISCUSSÃO

Diferentes padrões de treinamento físico resultam em diferentes níveis de estresse oxidativo<sup>(21)</sup>. No presente estudo, os dois padrões distintos de exercício físico não alteraram os níveis de malondialdeído (MDA). Por outro lado, houve modificações nas concentrações séricas de proteína carbonil. Alguns estudos demonstraram respostas similares nestes parâmetros bioquímicos. Ogonovszky et al<sup>(22)</sup> observaram em ratos submetidos a cargas de exercício moderado, exercício extenuante e exercício excessivamente extenuante que, os níveis de peroxidação lipídica medidos através de espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) diminuíram com os três padrões de treinamento, mas não apresentando diferença significativa e que a oxidação proteica medida através de derivados reativos de conteúdo carbonil (RCD) demonstrou redução significativamente diferente entre o grupo treinado moderadamente e o grupo controle. Zoppi & Macedo<sup>(23)</sup> demonstraram haver aumento significativo nos níveis de TBARS e de RCD em ratos treinados com cargas de exercício para induzir “overreaching” comparado a ratos treinados em exercício aeróbio moderado ou ratos sedentários.

Desde que pesquisas passaram a demonstrar que o estresse oxidativo e a resposta inflamatória contribuem com a causa da fadiga, com danos aos tecidos e com o atraso na recuperação após o exercício exaustivo, vários estudos passaram a dar maior ênfase sobre os nutracêuticos para reduzir estes efeitos<sup>(24)</sup>. Neste estudo identificou-se que a suplementação com maltodextrina não alterou os níveis de MDA e nem de proteína carbonil. Em humanos, as respostas oxidativas apresentaram resultados pouco diferentes aos nossos. Em jogadores de futebol que utilizaram suplementação por cápsulas de vitaminas C e E ou com pílulas contendo maltodextrina e acompanhados durante a fase pré-competitiva observou-se que os níveis de RCD não foram diferentes entre os grupos de jogadores, por outro lado, os atletas que receberam suplementação com maltodextrina apresentaram aumentos significativos nos níveis de TBARS após a temporada pré-competitiva<sup>(25)</sup>. Em homens treinados e submetidos a dois testes distintos de capacidade aeróbia em ciclo ergômetro, o primeiro a 70% do VO<sub>2</sub>max até chegar a exaustão e o segundo a 80% do VO<sub>2</sub>max e utilizando ou solução esportiva contendo carboidrato ou solução contendo vitaminas antioxidantes, proteínas e carboidratos se observou que o nível de peroxidação lipídica não apresentou diferença significativa entre as diferentes formas de suplementação, porém o conteúdo de proteína carbonil foi maior para os

indivíduos que receberam a suplementação contendo vitaminas antioxidantes, proteínas e carboidratos do que os que foram suplementados unicamente com carboidratos<sup>(26)</sup>.

A concentração e a função dos leucócitos são clinicamente importantes como indicadores do potencial imunológico do indivíduo e também são relevantes para aperfeiçoar os programas de treinamento em atletas por um longo período de treinamento<sup>(27)</sup>. Entretanto, repetidas sessões de exercício intenso e prolongado podem fazer declinar o número circulante e a capacidade funcional dos leucócitos<sup>(28)</sup>. Em nosso estudo não constatamos alterações na contagem total e diferencial de leucócitos. Respostas diferentes foram identificadas em humanos. Em homens e mulheres que participaram de exercício aeróbio moderado e de exercício de exaustão observou-se aumento significativo na contagem diferencial de leucócitos com o exercício de exaustão e nenhuma diferença significativa na contagem total e diferencial de leucócitos com o exercício moderado<sup>(29)</sup>. Margonis et al<sup>(30)</sup> demonstraram haver aumento significativo na contagem total de leucócitos em homens que realizaram exercícios de resistência muscular.

Gleeson et al<sup>(5)</sup> enfatizam que o consumo de uma solução carboidratada durante o treinamento é recomendado para atenuar alguns dos efeitos imunossupressivos do exercício prolongado. Nós observamos que o uso de solução esportiva contendo maltodextrina não ocasionou alteração na contagem total e diferencial de leucócitos. Similarmente, Kreider et al<sup>(31)</sup> não observaram diferença significativa na concentração de leucócitos entre dois grupos de voluntários treinados e suplementados com maltodextrina ou com solução esportiva contendo proteína e sacarose logo após a participação em um programa de treinamento de resistência. Nieman et al<sup>(12)</sup> notaram que a administração de uma solução carboidratada (6% CHO) a homens treinados e submetidos a sessão de exercícios físicos atenuou o aumento nas quantidades celulares totais de leucócitos, neutrófilos e monócitos. Nosso estudo, diferentemente de alguns resultados apresentados acima, não apresentou alteração na concentração de células brancas sanguíneas. Este resultado pode ser considerado positivo em relação as cargas de treinamento de moderada a alta intensidade. Não foi identificada leucopenia (declínio) após treinamento físico que poderia ser causa de imunossupressão ou leucocitose (aumento) que poderia induzir a processos inflamatórios decorrentes de um tecido lesionado ou do estresse físico intenso.

Um adequado depósito de glicogênio muscular e hepático é essencial para manutenção do exercício. Estes estoques de glicogênio são estratégias importantes para os atletas. Entretanto, os depósitos endógenos de glicogênio fornecem pouca energia e podem ser exauridos durante o exercício prolongado<sup>(32)</sup>. Neste estudo, observou-se uma redução nos níveis de glicogênio hepático entre os grupos de ratos treinados em exercício aeróbio. Diminuição nos níveis de glicogênio muscular em ratos treinados em exercício anaeróbio que receberam água. Elevações no conteúdo de glicogênio muscular de ratos treinados em exercício aeróbio e suplementados com maltodextrina. No estudo realizado por Pinho et al<sup>(21)</sup> ratos treinados durante 12 semanas em exercício aeróbio demonstraram elevações significativas no conteúdo de glicogênio do músculo gastrocnêmio comparado ao grupo de animais sedentários. Em ratos submetidos a exercício de exaustão e que receberam dieta rica ou pobre em carboidratos, observou-se que o conteúdo de glicogênio muscular diminuiu significativamente do pré para o pós-teste; entretanto, no grupo que consumiu a dieta rica em carboidratos o conteúdo de glicogênio muscular foi significativamente maior<sup>(33)</sup>. Ochiai & Matsuo<sup>(32)</sup> demonstraram que o conteúdo de glicogênio hepático de ratos treinados aerobicamente foi influenciado pelo tipo de dieta consumida. Ratos treinados que consumiram uma dieta rica em carboidratos apresentaram maiores concentrações hepática de glicogênio pós-exercício do que ratos que receberam uma dieta rica em gorduras. Entretanto o conteúdo de glicogênio do músculo gastrocnêmio foi significativamente menor no pós-exercício.

No presente estudo o declínio no conteúdo hepático de glicogênio dos animais treinados aerobicamente pode estar envolvido com maior fornecimento de glicose para o músculo em contração, isto também pode ser evidenciado pela maior disponibilidade de glicogênio muscular durante o treinamento aeróbio. Por este motivo, os carboidratos representam um papel crucial como fonte de energia para o trabalho muscular durante exercícios intensos<sup>(34)</sup>.

O declínio nos níveis de lactato sanguíneo durante uma competição, entre outros fatores, é um importante marcador bioquímico da otimização do desempenho físico<sup>(35)</sup>. Assim como a ingestão de carboidratos durante o exercício de moderada a alta intensidade pode melhorar a capacidade ao exercício<sup>(36)</sup>. Entretanto, o aumento da concentração sanguínea de lactato poderá ser influenciado pelo aumento na sobrecarga de treinamento, assim como demonstrado no presente estudo. Pesquisas realizadas em humanos apresentam diferentes resultados. Bangsbo et

al<sup>(37)</sup> ao realizarem um estudo com dois grupos de corredores no qual, durante nove semanas um dos grupos reduziu o volume de treinamento, mas com acréscimos na velocidade de treinamento enquanto o outro grupo continuou com a mesma carga de treinamento utilizada antes do estudo observou-se que entre os grupos experimentais durante corrida submáxima em diferentes velocidades e durante teste de exaustão no final do período de treinamento não houve modificação na concentração de lactato sanguíneo. Mamus et al.<sup>(35)</sup> durante uma prova de duatlon (corrida e ciclismo) na qual os atletas ingeriram ou uma suplementação líquida contendo maltodextrina ou uma solução placebo, observaram que, ao final da prova, os níveis de lactato foram maiores entre os atletas que consumiram a solução líquida contendo maltodextrina. Em ciclistas e triatletas que ingeriram soluções contendo polímeros de glicose de alto peso molecular, polímeros de glicose de baixo peso molecular ou água, identificou-se que a concentração de lactato foi significativamente maior entre os atletas que consumiram as duas soluções com polímeros de glicose em relação aos atletas que consumiram água, entretanto não houve diferença significativa entre quem consumiu a solução de polímeros de glicose de alto peso molecular e a de baixo peso molecular<sup>(36)</sup>. Também não houve diferença significativa no tempo decorrido até chegar à fadiga entre homens treinados que ingeriram uma solução esportiva contendo carboidrato ou solução contendo vitaminas antioxidantes, proteínas e carboidratos<sup>(26)</sup>.

De acordo com o exposto, as limitações deste estudo referem-se à necessidade de avaliações dos níveis glicêmicos, de hormônio adrenocorticotrópico (ACTH), cortisol e epinefrina relacionados com a manutenção da glicose sanguínea e também a falta de avaliação de agentes antioxidantes endógenos enzimáticos e não enzimáticos além de outros marcadores de imunidade, como miocinas, para uma interpretação mais precisa do real papel da suplementação com maltodextrina associada a diferentes programas de treinamento sobre variáveis metabólicas e imunológicas, bem como uma potencial fonte de manutenção ou recuperação do desempenho físico durante e após eventos esportivos.

Os pontos fortes deste estudo foram o design fatorial adotado e a adequada utilização dos testes estatísticos para as variáveis paramétricas e não paramétricas; embora a utilização de testes não paramétricos, reconhecidamente, implicarem em perda de poder estatístico.

Em conclusão, este estudo demonstrou que os dois padrões de treinamento físico não ocasionaram danos oxidativos nas camadas lipídicas e nem alterações nas concentrações sanguíneas de leucócitos circulantes; entretanto, tanto o exercício aeróbio quanto o anaeróbio proporcionaram perdas proteicas importantes. A suplementação carboidratada foi efetiva como fonte fornecedora de energia para o tecido muscular em contração poupando seus estoques de glicogênio no exercício aeróbio.

#### Agradecimentos

A CAPES pela bolsa de estudo concedida.

#### 5. REFERÊNCIAS

1. Ferreira LF, Reid MB. Muscle-derived ROS and thiol regulation in muscle fatigue. *J Appl Physiol* 2008;104:853-60.
2. Silveira LR, Hirabara SM, Lambertucci RH, Leandro CV, Fiamoncini J, Pinheiro CHJ, et al. Regulação metabólica e produção de espécies reativas de oxigênio durante a contração muscular: efeito do glicogênio na manutenção do estado redox intracelular. *Rev Bras Med Esporte* 2008;14(1):57-63.
3. Finaud J, Lac G, Filaire E. Oxidative stress: relationship with exercise and training. *Sports Med* 2006;36(4):327-58.
4. Close GL, Ashton T, Cable T, Doran D, Noyes C, McArdle F, et al. Effects of carbohydrate on delayed onset muscle soreness and reactive oxygen species after contraction induced muscle damage. *Br J Sports Med* 2005;39:948-53.
5. Gleeson M, Nieman DC, Pedersen, BK. Exercise, nutrition and immune function. *J Sports Sci* 2004;22:115-25.
6. Braun WA, von Duvillard SP. Influence of carbohydrate delivery on the immune response during exercise and recovery from exercise. *Nutrition* 2004;20:645-50.
7. Rombaldi AJ, Sampedro RMF. Fatores a considerar na suplementação com soluções carboidratadas. *Rev Bras Ativ Fis Saude* 2001;6(1):53-61.
8. Wolf BW, Garleb KA, Choe Y, Humphrey PM, Maki KC. Pullulan is a slowly digested carbohydrate in humans. *J Nutr* 2003;133:1051-5.
9. Carlson LA, Headley S, DeBruin J, Tuckow AP, Koch AJ, Kenefick RW. Carbohydrate supplementation and immune responses after acute exhaustive resistance exercise. *Int J Sport Nutr Exerc Metab* 2008;18:247-59.

10. Cox AJ, Pyne DB, Cox GR, Callister R, Gleeson M. Pre-exercise carbohydrate status influences carbohydrate-mediated attenuation of post-exercise cytokine responses. *Int J Sports Med* 2008;29:1003-9.
11. Timmons BW, Tarnopolsky MA, Bar-Or O. Sex-based effects on the distribution of NK cell subsets in response to exercise and carbohydrate intake in adolescents. *J Appl Physiol* 2006;100:1513-9.
12. Nieman DC, Davis JM, Brown VA, Henson DA, Dumke CL, Utter AC, et al. Influence of carbohydrate ingestion on immune changes after 2 h of intensive resistance training. *J Appl Physiol* 2004;96:1292-8.
13. Gobatto CA, Mello MAR, Sibuya CY, Azevedo JRM, Santos LA, Kokubun E. Maximal lactate steady state in rats submitted to swimming exercise. *Comp Biochem Physiol* 2001;130: 21-7.
14. Rombaldi AJ. Alguns efeitos bioquímicos da ingestão de carboidrato líquido na realização de trabalho intermitente de alta intensidade em ratos. 1996. 265f. Tese (Doutorado em Ciências do Movimento Humano) – Centro de Educação Física e Desportos, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria.
15. Jentsch AM, Bachmann H, Fürst P, Biesalski HK. Improved analysis of malondialdehyde in human body fluids. *Free Rad Biol Medic* 1996;20:251-6.
16. Levine RL, Garland D, Oliver CN, Amiei A, Climent I, Lenz A. Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. *Methods in Enzymology* 1990;186:464-8.
17. Bradford MM. A rapid and sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem* 1976;72:248-54.
18. Peixoto NC, Pereira ME. Effectiveness of ZnCl<sub>2</sub> in protecting against nephrotoxicity induced by HgCl<sub>2</sub> in newborn rats. *Ecotox Environ Safe* 2007;66:441-6.
19. Krisman CR. A method for the colorimetric estimation of glycogen with iodine. *Anal Biochem* 1962;4:17-23.
20. Dantas JA, Ambiel CR, Cuman RKN, Baroni S, Bersani-Amado CA. Valores de referência de alguns parâmetros fisiológicos de ratos do Biotério Central da Universidade Estadual de Maringá, Estado do Paraná. *Acta Sci Health Sci* 2006;28(2):165-70.

21. Pinho RA, Andrades ME, Oliveira MR, Pirola AC, Zago MS, Silveira PCL, et al. Imbalance in SOD/CAT activities in rat skeletal muscles submitted to treadmill training exercise. *Cell Biol Intern* 2006;30:848-53.
22. Ogonovszky H, Sasvári M, Dosek A, Berkes I, Kaneko T, Tahara S, et al. The effects of moderate, strenuous, and overtraining on oxidative stress markers and DNA repair in rat liver. *Can J Appl Physiol* 2005;30(2):186-95.
23. Zoppi CC, Macedo DV. Overreaching-induced oxidative stress, enhanced HSP72 expression, antioxidant and oxidative enzymes downregulation. *Scand J Sci Sports* 2008;18:67-76.
24. Huang CC, Lin TJ, Lu YF, Chen CC, Huang CY, Lin WT. Protective effects of L-Arginine supplementation against exhaustive exercise-induced oxidative stress in young rat tissues. *Chin J Physiol* 2009;52(5):306-15.
25. Zoppi CC, Hohl R, Silva FC, Lazarim FL, Neto JMFA, Stancanneli M, et al. Vitamin C and E supplementation effects in professional soccer players under regular training. *J Int Soc Sports Nut* 2006;3(2):37-44.
26. Goldfarb AH, Cho C, Cho H, Romano-Ely B, Todd K. Protein and antioxidants in an isocaloric carbohydrate drink: effect on plasma oxidative-stress markers and IL-6. *Int J Nut Exer Metab* 2009;19:115-26.
27. Malm C, Ekblom Ö, Ekblom B. Immune system alteration in response to increased physical training during five day soccer training camp. *Int J Sports Med* 2004;25:471-6.
28. Gleeson M. Immune function in sport and exercise. *J Appl Physiol* 2007;103:693-9.
29. Mooren FC, Blöming D, Lechtermann A, Lerch MM, Völker K. Lymphocyte apoptosis after exhaustive and moderate exercise. *J Appl Physiol* 2002;93:147-53.
30. Margonis K, Fatouros IG, Jamurtas AZ, Nikolaidis MG, Douroudos I, Chatzinikolaou A, et al. Oxidative stress biomarkers responses to physical overtraining: implications for diagnosis. *Free Radic Biol Med* 2007;43:901-10.
31. Kreider RB, Earnest CP, Lundberg J, Rasmussen C, Greenwood M, Cowan P, et al. Effects of ingesting protein with various forms of carbohydrate following resistance-exercise on substrate availability and markers of anabolism, catabolism, and immunity. *J Int Soc Sports Nut* 2007;4(18):1-11.

32. Ochiai M, Matsuo T. Effects of short-term dietary change from high-carbohydrate diet to high-fat diet on storage, utilization, and fatty acid composition of rat muscle triglyceride during swimming exercise. *J Clin Biochem Nutr* 2009;44:168-77.
33. Shinohara A, Takakura J, Yamane A, Suzuki M. Effect of the classic 1-week glycogen-loading regimen on fat-loading in rats and humans. *J Nutr Sci Vitaminol* 2010;56:299-304.
34. Mikulski T, Ziembra A, Nazar K. Metabolic and hormonal responses to body carbohydrate store depletion followed by high or low carbohydrate meal in sedentary and physically active subjects. *J Physiol Pharmacol* 2010;61(2):193-200.
35. Mamus RT, Santos MG, Campbell B, Kreider R. Biochemical effects of carbohydrate supplementation in a simulated competition of short terrestrial duathlon. *J Int Soc Sports Nut* 2006;3(2):6-11.
36. Rowlands DS, Wallis GA, Shaw C, Jentjens RLPG, Jeukendrup AE. Glucose polymer molecular weight does not affect exogenous carbohydrate oxidation. *Med Sci Sports Exerc* 2005;37(9):1510-16.
37. Bangsbo J, Gunnarsson TP, Wendell J, Nybo L, Thomassen M. Reduced volume and increased training intensity elevate muscle Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup> pump  $\alpha_2$ -subunit expression as well as short- and long-term work capacity in humans. *J Appl Physiol* 2009;107:1771-80.



Tabela 1. Médias e desvio padrão das variáveis dependentes em amostras sanguíneas, sorológicas, tecido hepático e muscular de ratos Wistar sedentários, treinados, suplementados com maltodextrina ou que receberam água pura (n=69).

Variáveis	Média	Desvio padrão
Peso inicial	330,1	40,4
Peso final	415,3	46,3
Lactato	9,6	6,0
Glicogênio hepático	0,7	0,3
Glicogênio gastrocnêmio	0,5	0,2
MDA	7,5	3,2
Proteína carbonil	2,8	1,5
Leucócitos totais	13587,0	9515,2
Neutrófilos	1205,5	986,4
Basófilos	162,9	156,6
Eosinófilos	224,5	219,0
Linfócitos	11639,8	8410,5
Monócitos	354,3	315,5

Peso inicial (gramas), peso final (gramas), lactato (mmol/L), glicogênio hepático (mg/100mg), glicogênio gastrocnêmio (mg/100mg), MDA= malondialdeído (nmol MDA/mL), proteína carbonil (nmol de proteína carbonil/mg), leucócitos totais (nº células/mm<sup>3</sup>), neutrófilos (nº células/mm<sup>3</sup>), basófilos (nº células/mm<sup>3</sup>), eosinófilos (nº células/mm<sup>3</sup>), linfócitos (nº células/mm<sup>3</sup>), monócitos (nº células/mm<sup>3</sup>).

Tabela 2. Efeitos do treinamento físico e de suplementação carboidratada sobre peroxidação lipídica e oxidação protéica (concentrações de MDA e proteína carbonil) em amostras sorológicas de ratos Wistar.

Marcadores de dano oxidativo	Sed		Teae (EEML)		Tean (alta intensidade)	
	Água (n=12)	CHO (n=12)	Água (n=11)	CHO (n=11)	Água (n=12)	CHO (n=11)
[MDA], nmolMDA/mL	7,0±1,4	6,0±1,3	8,8±5,4	8,4±2,4	8,0±4,2	7,3±2,0
[proteína carbonil], nmol proteína carbonil/mg	1,1±0,3	1,0±0,4	4,5±1,1 <sup>a</sup>	3,9±0,8	3,6±0,5 <sup>a</sup>	3,0±0,5

Os valores estão expressos como médias e desvio padrão. “Água” corresponde aos animais que receberam água pura. “CHO” corresponde aos animais suplementados com maltodextrina. Sed= animais sedentários. Teae (EEML)= animais treinados em exercício aeróbio sob carga de Estado Estável Máximo de Lactato. Tean (alta intensidade)= animais treinados em exercício anaeróbio de alta intensidade. <sup>a</sup>p<0,001 versus Sed água. Variável MDA foi usado o teste estatístico ANOVA fatorial. Variável proteína carbonil foi usado o teste estatístico Kruskal Wallis.

Tabela 3. Comparação da contagem total e diferencial de leucócitos entre os grupos experimentais em amostras de sangue total de ratos Wistar.

Concentração de células sanguíneas brancas circulantes (nº de células/mm <sup>3</sup> )			
	Sed	Teae (EEML)	Tean (alta intensidade)
Leucócitos totais	12133,3±9832,6*	14886,4±11570,5*	14870,8±7690,6*
	10154,2±7256,0**	14963,6±10879,6**	14840,9±10477,3**
Neutrófilos	1087,9±893,0*	1362,3±1105,2*	1087,3±559,7*
	795,9±574,4**	1591,5±1113,7**	1360,8±1454,6**
Eosinófilos	174,2±162,4*	224,2±209,1*	274,0±243,0*
	163,0±162,4**	283,7±350,7**	234,4±148,6**
Basófilos	132,7±107,7*	148,9±115,7*	176,2±101,1*
	101,5±72,6**	234,5±290,4**	190,5±163,3**
Linfócitos	10350,2±8486,9*	12867,3±10435,2*	12957,3±7207,2*
	8848,7±6479,0**	12585,4±9399,7**	12483,2±9184,1**
Monócitos	388,4±320,9*	277,7±243,8*	375,9±222,2*
	247,1±210,5**	269,6±168,1**	572,0±539,0**

Os valores estão expressos como médias e desvio padrão. \*Corresponde aos animais que receberam água pura. \*\*Corresponde aos animais suplementados com maltodextrina. Usou-se o teste estatístico Kruskal Wallis para a variável Monócitos. O teste estatístico ANOVA fatorial foi utilizado para as demais variáveis.

Tabela 4. Conteúdo de glicogênio hepático e muscular (mg/100mg) de ratos Wistar que receberam água pura ou suplementados com maltodextrina.

	Sed		Teae (EEML)		Tean (alta intensidade)	
	Água (n=12)	CHO (n=12)	Água (n=11)	CHO (n=11)	Água (n=12)	CHO (n=11)
Fígado	0,8±0,4	0,9±0,3	0,6±0,4 <sup>a</sup>	0,6±0,3 <sup>a</sup>	0,7±0,3	0,8±0,3
Gastrocnêmio (porções branca e vermelha)	0,5±0,1	0,5±0,1	0,6±0,2	0,7±0,4 <sup>b,c,d</sup>	0,5±0,2	0,5±0,2

Os valores estão expressos como médias e desvio padrão. As letras diferentes sobrescritas indicam diferença estatística significativa entre os grupos: <sup>a</sup>p≤0,02 versus Sed CHO, <sup>b</sup>p=0,007 versus Sed água, <sup>c</sup>p=0,008 versus Sed CHO, <sup>d</sup>p=0,02 versus Tean água. Teste estatístico utilizado foi a ANOVA fatorial seguido de Fisher.

Tabela 5. Efeitos do treinamento e da suplementação carboidratada sobre marcadores de desempenho físico em ratos Wistar.

Marcadores	Sed		Teae (EEML)		Tean (alta intensidade)	
	Água (n=12)	CHO (n=12)	Água (n=11)	CHO (n=11)	Água (n=12)	CHO (n=11)
[Lactato] sanguíneo, mmol/L	5,1±1,3	4,6±1,2	6,8±4,6	7,8±4,1	17,3±3,2 <sup>a,b</sup>	16,1±2,3
Tempo até exaustão, seg	-	-	-	-	708,3±421,7	976,0±763,4

Os valores estão expressos como médias e desvio padrão. <sup>a</sup>p<0,001 versus Sed água.

<sup>b</sup>p<0,001 versus Teae água. Variável lactato foi usado o teste estatístico Kruskal Wallis.

Variável tempo até a exaustão foi usado o Teste "t" de Student.

# **COMUNICADO À IMPRENSA**

**Mestranda: Cátia Fernandes Leite**

**Orientador: Dr. Airton José Rombaldi**

## **Prática regular de exercícios intensos e o uso de solução esportiva carboidratada melhoram o desempenho sem gerar danos nos indicadores de saúde**

A prática regular de exercícios intensos aeróbios e anaeróbios juntamente com o uso de suplementação líquida contendo carboidratos contribui para um melhor desempenho esportivo e não causam alterações nas concentrações de células brancas do sangue que são componentes importantes do sistema imunológico e auxiliam na recuperação de lesões.

Até pouco tempo se acreditava que a prática regular de exercícios intensos aeróbios poderia diminuir a concentração sanguínea de leucócitos e gerar danos nos componentes celulares pela maior produção de radicais livres durante eventos esportivos.

Para se verificar se a prática regular de exercício aeróbio (natação de padrão contínuo) ou exercício anaeróbio (exercício de natação até a exaustão) e o uso de solução esportiva a base de maltodextrina têm efeitos sobre a perda de componentes celulares importantes como proteínas e lipídeos foi realizado um estudo com ratos de laboratório (raça Wistar). Os animais realizaram exercícios de natação intensos por oito semanas e ingeriram ou uma solução esportiva com maltodextrina ou água pura durante as sessões de treinamento.

A pesquisa realizada pela aluna de mestrado em Educação Física da Universidade Federal de Pelotas, Cátia Fernandes Leite sob a orientação do Dr. Airton José Rombaldi, revelou que o exercício aeróbio e o anaeróbio proporcionaram perdas proteicas importantes, mas sem alteração na concentração sanguínea de leucócitos circulantes. A solução esportiva com maltodextrina foi efetiva ao aumentar o conteúdo de glicogênio muscular.

Esses dados indicam que a prática de exercícios intensos aeróbios ou anaeróbios pode acarretar perdas importantes de aminoácidos e proteínas que fazem parte de estruturas celulares como o tecido muscular, apesar de não ter havido indícios de queda na concentração de células imunes do sangue. Os resultados deste estudo, também reforçam a necessidade da utilização de solução esportiva com maltodextrina para uma reposição dos estoques corporais de carboidratos.

# **APÊNDICE**

**Mestranda: Cátia Fernandes Leite**

**Orientador: Dr. Airton José Rombaldi**

## APÊNDICE 1

## CRONOGRAMA DE EUTANÁSIA

(dias 21 e 28 de novembro e dia 5 de dezembro de 2010)

**GRUPO SEDENTÁRIO** (total 8 animais):

- Suplementação às 7h15min.
- Banho de imersão: das 7h20min às 7h30min.
- Eutanásia: início às 8h30min.

**GRUPO AERÓBIO**

SEQUÊNCIA	ENTRADA NO TANQUE	SAÍDA DO TANQUE
1º animal	9h	10h
2º animal	9h15min	10h15min
3º animal	9h30min	10h30min
4º animal	9h45min	10h45min
5º animal	10h	11h
6º animal	10h15min	11h15min
7º animal	10h30min	11h30min
8º animal	10h45min	11h45min

Obs.: os animais serão colocados para nadar já com as sobrecargas e após 2min de natação serão suplementados e recolocados no tanque para realização de 1h de natação. A eutanásia será imediatamente após o exercício de natação.

**GRUPO DE ALTA INTENSIDADE**

- Entrada do primeiro rato Wistar no tanque às 14h.
- Saída do primeiro animal do tanque quando chegar à exaustão, e assim sucessivamente para cada roedor.
- Deve-se anotar o tempo de natação de cada rato Wistar até o roedor chegar à exaustão.

Obs.: o animal será colocado para nadar sem a sobrecarga e após 2min de natação será colocada a sobrecarga e administrada a suplementação (solução com maltodextrina ou água pura), logo em seguida o roedor será recolocado no tanque para realização de exercício de natação até chegar à exaustão. A eutanásia será imediatamente após a exaustão.

# **ANEXOS**

**Mestranda: Cátia Fernandes Leite**

**Orientador: Dr. Airton José Rombaldi**

## ANEXO 1

Volume de solução com maltodextrina ou água pura administrados de acordo com o peso corporal do animal

Peso do rato (g)	Volume (mL)	Peso do rato (g)	Volume (mL)
180	0,72	375	1,50
185	0,74	380	1,52
190	0,76	385	1,54
195	0,78	390	1,56
200	0,80	395	1,58
205	0,82	400	1,60
210	0,84	405	1,62
215	0,86	410	1,64
220	0,88	415	1,66
225	0,90	420	1,68
230	0,92	425	1,70
235	0,94	430	1,72
240	0,96	435	1,74
245	0,98	440	1,76
250	1,00	445	1,78
255	1,02	450	1,80
260	1,04	455	1,82
265	1,06	460	1,84
270	1,08	465	1,86
275	1,10	470	1,88
280	1,12	475	1,90
285	1,14	480	1,92
290	1,16	485	1,94
295	1,18	490	1,96
300	1,20	495	1,98
305	1,22	500	2,00
310	1,24		
315	1,26		
320	1,28		
325	1,30		
330	1,32		
335	1,34		
340	1,36		
345	1,38		
350	1,40		
355	1,42		
360	1,44		
365	1,46		
370	1,48		

Volume de maltodextrina administrado = 12% (m/v)  
**massa ingerida = 0,48 g.Kg<sup>-1</sup>.**

## ANEXO 2

## Normas para publicação na Revista Brasileira de Medicina do Esporte

## Escopo e Política

A Revista Brasileira de Medicina do Esporte (RBME) é o órgão oficial da Sociedade Brasileira de Medicina do Exercício e do Esporte (SBME), com publicação bimestral. A missão da RBME é disseminar a produção científica nas áreas de ciências do exercício e do esporte, através da publicação de resultados de pesquisas originais e de outras formas de documentos que contribuam para o conhecimento fundamental e aplicado em atividade física, exercício e esporte no âmbito das ciências biológicas e da medicina.

Serão considerados para publicação artigos originais, artigos de opinião, artigos de revisão, relatos de experiência, relatos de casos ou cartas ao editor, sobre assuntos relacionados com as áreas de Medicina e Ciências do Exercício e do Esporte. Ser membro da SBME não representa um pré-requisito para publicação na RBME, nem influencia a decisão do Conselho Editorial. Serão aceitos artigos escritos na língua portuguesa e, a critério do Conselho Editorial, autores e grupos estrangeiros poderão publicar artigos escritos em inglês.

Todos os artigos serão publicados na íntegra, sendo responsabilidade da RBME a produção das versões estrangeiras.

A RBME adota as regras de preparação de manuscritos da Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals (International Committee of Medical Journal Editors. Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals. Ann Intern Med 1997;126:36-47), cuja última atualização, realizada em 2010, está disponível na internet (<http://www.icmje.org>).

## Dupla submissão

Os artigos submetidos à RBME serão considerados para publicação somente com a condição de que não tenham sido publicados ou não estejam em processo de avaliação para publicação em outro periódico, seja na sua versão integral ou em parte. A RBME não considerará para publicação artigos cujos dados tenham sido disponibilizados na internet para acesso público. Se houver no artigo submetido algum material em figuras ou tabelas já publicado em outro local, a submissão do artigo deverá ser acompanhada de cópia do material original e da permissão por escrito para reprodução do material.

## Conflito de interesse

Os autores deverão explicitar, através de formulário próprio (Divulgação de potencial conflito de interesses), qualquer potencial conflito de interesse relacionado ao artigo submetido, conforme determinação da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (RDC 102/ 2000) e do Conselho Federal de Medicina (Resolução nº 1.595/2000). Esta exigência visa informar os editores, revisores e leitores sobre relações profissionais e/ou financeiras (como patrocínios e Rev Bras Med Esporte - Instruções aos autores <http://www.scielo.br/revistas/rbme/pinstruc.htm>[09/02/2011 13:45:17] participação societária) com agentes financeiros relacionados aos produtos farmacêuticos ou equipamentos envolvidos no trabalho, os quais podem teoricamente influenciar as interpretações e conclusões do mesmo. A existência ou

não de conflito de interesse declarado estarão ao final de todos os artigos publicados.

#### Bioética de experimentos com seres humanos

A realização de experimentos envolvendo seres humanos deve seguir a resolução específica do Conselho Nacional de Saúde (nº 196/96) disponível na internet (<http://conselho.saude.gov.br/docs/Resolucoes/Reso196de96.doc>), incluindo a assinatura de um termo de consentimento informado e a proteção da privacidade dos voluntários.

#### Bioética de experimentos com animais

A realização de experimentos envolvendo animais deve seguir resoluções específicas (Lei nº 6.638, de 8 de maio de 1979; e Decreto nº 24.645 de 10 de julho de 1934).

#### Ensaio clínico

Os artigos contendo resultados de ensaios clínicos deverão disponibilizar todas as informações necessárias à sua adequada avaliação, conforme previamente estabelecido. Os autores deverão referir-se ao "CONSORT" ([www.consortstatement.org](http://www.consortstatement.org)).

#### Revisão pelos pares

Todos os artigos submetidos serão avaliados, por revisores com experiência e competência profissional na respectiva área do trabalho e que emitirão parecer fundamentado, os quais serão utilizados pelos Editores para decidir sobre a aceitação do mesmo. Os critérios de avaliação dos artigos incluem: originalidade, contribuição para corpo de conhecimento da área, adequação metodológica, clareza e atualidade. Considerando o crescente número de submissões à RBME, artigos serão também avaliados quanto à sua relevância no que tange à contribuição para o conhecimento específico na área. Assim, artigos com adequação metodológica e resultados condizentes poderão não ser aceitos para publicação quando julgados como de baixa relevância pelos Editores. Tal decisão de recusa não estará sujeita a recurso ou contestação por parte dos autores. Os artigos aceitos para publicação poderão sofrer revisões editoriais para facilitar sua clareza e entendimento sem alterar seu conteúdo.

#### Correção de provas gráficas

Logo que prontas, as provas gráficas (layout) em formato eletrônico serão enviadas, por e-mail, para o autor responsável pelo artigo. Os autores deverão devolver, também por e-mail, a prova gráfica (layout) com as devidas correções em, no máximo, 48 horas após o seu recebimento. O envio e o retorno das provas gráficas por correio eletrônico visa agilizar o processo de revisão e posterior publicação das mesmas.

#### Direitos autorais

Todas as declarações publicadas nos artigos são de inteira responsabilidade dos autores. Entretanto, todo material publicado torna-se propriedade da SBME, que passa a reservar os direitos autorais. Portanto, nenhum material publicado na RBME poderá ser reproduzido sem a permissão por escrito da SBME. Todos os autores de artigos submetidos à RBME deverão assinar um Termo de Transferência de Direitos

Autorais (a seguir), que entrará em vigor a partir da data de aceite do trabalho. O autor responsável pelo artigo receberá, sem custos, a separata eletrônica da publicação (em formato PDF). Rev Bras Med Esporte - Instruções aos autores <http://www.scielo.br/revistas/rbme/pinstruc.htm>[09/02/2011 13:45:17]

#### Endereço para correspondência

Revista Brasileira de Medicina do Esporte – SOCIEDADE BRASILEIRA DE MEDICINA DO EXERCÍCIO E DO ESPORTE – Avenida Brigadeiro Luis Antônio, 278 – 6º andar – 01318-901 – São Paulo, SP – Tel./fax: (11) 3106 7544 / Fax: (11) 3106 8611 – E-mail: [sbme@medicinadoesporte.org.br](mailto:sbme@medicinadoesporte.org.br)

#### Forma e preparação de manuscritos

O artigo submetido deve ser digitado em espaço duplo, fonte arial 12, papel tamanho A4 ou ofício, com margens de 2,5cm, sem numerar linhas ou parágrafos, e numerando as páginas no canto superior direito. Gráficos e tabelas devem ser apresentados no final do artigo em páginas separadas, assim como as legendas das figuras. As figuras devem ser incluídas em arquivos individuais. No corpo do texto deve-se informar os locais para inserção dos gráficos, tabelas ou figuras. Os manuscritos que não estiverem de acordo com as instruções a seguir em relação ao estilo e formato serão devolvidos sem revisão pelo Conselho Editorial.

#### Formato dos arquivos

- Para o texto, usar editor de texto do tipo Microsoft Word para Windows ou equivalente
- Não enviar arquivos em formato PDF
- As figuras deverão estar nos formatos jpg ou tif. Deverão estar incluídas no arquivo Word, mas também devem ser enviadas separadamente (anexadas durante a submissão do artigo como documento suplementar).

#### Artigo original

Um artigo original deve conter no máximo 30 (trinta) referências e 20 (vinte) páginas incluindo referências, figuras e tabelas, e ser estruturado com os seguintes itens, cada um começando por uma página diferente: **Página título:** deve conter (1) o título do artigo, que deve ser objetivo, mas informativo; (2) nomes completos dos autores; áreas de formação dos autores; instituição(ões) de origem, com cidade, estado e país, se fora do Brasil; (3) nome do autor correspondente, com endereço completo e e-mail. A titulação dos autores não deve ser incluída. **Resumo:** deve conter (1) o resumo em português, com não mais do que 300 palavras, estruturado de forma a conter: introdução e objetivo, métodos, resultados e conclusão; (2) três a cinco palavras-chave, que não constem no título do artigo. Usar obrigatoriamente termos do *Medical Subject Headings, do Index Medicus* (<http://www.nlm.nih.gov/mesh/>); (3) o resumo em inglês (abstract), representando a versão do resumo para a língua inglesa; (4) três a cinco palavras-chave em inglês (keywords). **Introdução:** deve conter (1) justificativa objetiva para o estudo, com referências pertinentes ao assunto, sem realizar uma revisão extensa; (2) objetivo do artigo. **Métodos:** deve conter (1) descrição clara da amostra utilizada; (2) termo de consentimento para estudos experimentais envolvendo humanos; (3) identificação dos métodos, aparelhos (fabricantes e endereço entre parênteses) e procedimentos utilizados de modo suficientemente detalhado, de forma a permitir a reprodução dos resultados pelos leitores; (4) descrição breve e referências de métodos publicados,

mas não amplamente conhecidos; (5) descrição de métodos novos ou modificados; (6) quando pertinente, incluir a Rev Bras Med Esporte - Instruções aos autores <http://www.scielo.br/revistas/rbme/pinstruc.htm>[09/02/2011 13:45:17] análise estatística utilizada, bem como os programas utilizados. No texto, números menores que 10 são escritos por extenso, enquanto que números de 10 em diante são expressos em algarismos arábicos. **Resultados:** deve conter (1) apresentação dos resultados em sequência lógica, em forma de texto, tabelas e ilustrações; evitar repetição excessiva de dados em tabelas ou ilustrações e no texto; (2) enfatizar somente observações importantes. **Discussão:** deve conter (1) ênfase nos aspectos originais e importantes do estudo, evitando repetir em detalhes dados já apresentados na Introdução e nos Resultados; (2) relevância e limitações dos achados, confrontando com os dados da literatura, incluindo implicações para futuros estudos; (3) ligação das conclusões com os objetivos do estudo; (4) conclusões que podem ser tiradas a partir do estudo; recomendações podem ser incluídas, quando relevantes. **Agradecimentos:** deve conter (1) contribuições que justificam agradecimentos, mas não autoria; (2) fontes de financiamento e apoio de uma forma geral. Referências: as referências bibliográficas devem ser numeradas na sequência em que aparecem no texto, em formato sobrescrito entre parênteses. As referências citadas somente em legendas de tabelas ou figuras devem ser numeradas de acordo com uma sequência estabelecida pela primeira menção da tabela ou da figura no texto.

O estilo das referências bibliográficas deve seguir as regras do *Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals (International Committee of Medical Journal Editors. Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals. Ann Intern Med 1997;126:36-47; <http://www.icmje.org>)*. Alguns exemplos mais comuns são mostrados abaixo. Para os casos não mostrados aqui, consultar a referência acima. Os títulos dos periódicos devem ser abreviados de acordo com o *Index Medicus (List of Journals Indexed: <http://www.nlm.nih.gov/tsd/serials/lji.html>)*. Se o periódico não constar dessa lista, deve-se utilizar a abreviatura sugerida pelo próprio periódico. Deve-se evitar utilizar "comunicações pessoais" ou "observações não publicadas" como referências. Um resumo apresentado deve ser utilizado somente se for a única fonte de informação.

Exemplos:

1) Artigo padrão em periódico (deve-se listar todos os autores; se o número ultrapassar seis, colocar os seis primeiros, seguidos por et al): You CH, Lee KY, Chey RY, Mrnguy R. Electrocardiographic study of patients with unexplained nausea, bloating and vomiting. *Gastroenterology* 1980;79:311-4. Goate AM, Haynes AR, Owen MJ, Farrall M, James LA, Lai LY, et al. Predisposing locus for Alzheimer's disease on chromosome 21. *Lancet* 1989;1:352-5.

2) Autor institucional: The Royal Marsden Hospital Bone-Marrow Transplantation Team. Failure of syngeneic bone-marrow graft without preconditioning in post-hepatitis marrow aplasia. *Lancet* 1977;2:742-4.

3) Livro com autor(es) responsáveis por todo o conteúdo: Colson JH, Armour WJ. *Sports injuries and their treatment*. 2 nd rev. ed. London: S. Paul, 1986.

4) Livro com editor(es) como autor(es): Diener HC, Wilkinson M, editors. Druginduced headache. New York: Springer-Verlag, 1988.

5) Capítulo de livro: Weinstein L, Swartz MN. Pathologic properties of invading microorganisms. In: Sodeman WA Jr, Sodeman WA, editors. Pathologic physiology: mechanisms of disease. Philadelphia: Saunders, 1974;457-72.

#### Tabelas

As tabelas devem ser elaboradas em espaço 1,5, devendo ser planejadas para Rev Bras Med Esporte - Instruções aos autores <http://www.scielo.br/revistas/rbme/pinstruc.htm>[09/02/2011 13:45:17] ter como largura uma (8,7cm) ou duas colunas (18cm). Cada tabela deve possuir um título sucinto; itens explicativos devem estar ao pé da tabela. A tabela deve conter médias e medidas de dispersão (DP, EPM etc.), não devendo conter casas decimais irrelevantes. As abreviaturas devem estar de acordo com as utilizadas no texto e nas figuras. Os códigos de identificação de itens da tabela devem estar listados na ordem de surgimento no sentido horizontal e devem ser identificados pelos símbolos padrão.

#### Figuras

Serão aceitas fotos ou figuras em preto-e-branco. Figuras coloridas poderão ser publicadas quando forem essenciais para o conteúdo científico do artigo. Nestes casos, os custos serão arcados pelos autores. Para detalhes sobre ilustrações coloridas, solicitamos contactar diretamente a Atha Editora ([atharbme@uol.com.br](mailto:atharbme@uol.com.br)). Figuras coloridas poderão ser incluídas na versão eletrônica do artigo sem custo adicional para os autores. Os desenhos das figuras devem ser consistentes e tão simples quanto possível. Não utilizar tons de cinza. Todas as linhas devem ser sólidas. Para gráficos de barra, por exemplo, utilizar barras brancas, pretas, com linhas diagonais nas duas direções, linhas em xadrez, linhas horizontais e verticais. A RBME desestimula fortemente o envio de fotografias de equipamentos e animais. As figuras devem ser impressas com bom contraste e largura de uma coluna (8,7cm) no total. Utilizar fontes de no mínimo 10 pontos para letras, números e símbolos, com espaçamento e alinhamento adequados. Quando a figura representar uma radiografia ou fotografia sugerimos incluir a escala de tamanho quando pertinente.

#### Artigos de revisão

Os artigos de revisão são habitualmente encomendados pelo Editor a autores com experiência comprovada na área. Artigos de revisão deverão abordar temas específicos com o objetivo de atualizar os menos familiarizados com assuntos, tópicos ou questões específicas nas áreas de Medicina e Ciências do Exercício e do Esporte. O Conselho Editorial avaliará a qualidade do artigo, a relevância do tema escolhido e o comprovado destaque dos autores na área específica abordada. A inadequação de qualquer um dos itens acima acarretará na recusa do artigo pelos editores, sem que o mesmo seja enviado para o processo de revisão pelos pares. O artigo de revisão deve ter, no máximo, 30 (trinta) páginas e 100 (cem) referências.

#### Revisão sistemática

A RBME encoraja os autores a submeterem artigos de revisão sistemática da literatura nas áreas de Medicina e Ciências do Exercício e do Esporte. O Conselho Editorial avaliará a qualidade do artigo, a relevância do tema escolhido, o

procedimento de busca e os critérios para inclusão dos artigos. A inadequação de qualquer um dos itens acima acarretará na recusa do artigo pelos editores, sem que o mesmo seja enviado para o processo de revisão pelos pares. O artigo de revisão sistemática deve ter, no máximo, 30 (trinta) páginas e 100 (cem) referências.

#### Meta-análise

A RBME encoraja os autores a submeterem artigos de análise meta-analítica nas áreas de Medicina e Ciências do Exercício e do Esporte. O Conselho Editorial avaliará a qualidade do artigo, a relevância do tema escolhido, o procedimento de busca de artigos, os critérios para inclusão dos artigos e o tratamento estatístico utilizado. A inadequação de qualquer um dos itens acima acarretará na recusa do artigo pelos editores, sem que o mesmo seja enviado para o processo de revisão pelos pares. O artigo de meta-análise deve ter, no máximo, 30 (trinta) páginas e 100 (cem) referências. Rev Bras Med Esporte - Instruções aos autores <http://www.scielo.br/revistas/rbme/pinstruc.htm>[09/02/2011 13:45:17]

#### Artigos de opinião

Serão encomendados pelo Conselho Editorial a indivíduos de notório saber nas áreas de Medicina do Exercício e do Esporte e das Ciências do Esporte, que emitirão sua opinião pessoal sobre assuntos de particular interesse. O artigo de opinião deve ter, no máximo, 20 (vinte) páginas e 20 (vinte) referências.

#### Relatos de experiência

A RBME estimula profissionais que possuam uma experiência relevante em algum aspecto especial, original ou inovador em Medicina do Exercício e do Esporte ou das Ciências do Esporte a partilhá-la, sob a forma de um Relato de Experiência. A inadequação de qualquer um dos itens acima acarretará na recusa do artigo pelos editores, sem que o mesmo seja enviado para o processo de revisão pelos pares. O relato de experiência deve ter, no máximo, 15 (quinze) páginas e 15 (quinze) referências.

#### Relato de caso

A RBME pode aceitar artigos de relato de caso, descrevendo casos clínicos específicos que tragam informações relevantes e ilustrativas sobre diagnóstico ou tratamento de um caso particular que seja raro na Medicina do Exercício e do Esporte. Os artigos devem ser objetivos e precisos, contendo os seguintes itens: 1) Um Resumo e um Abstract contendo as implicações clínicas; 2) Uma Introdução com comentários sobre o problema clínico que será abordado, utilizando o caso como exemplo. É importante documentar a concordância do paciente em utilizar os seus dados clínicos; 3) Um Relato objetivo contendo a história, o exame físico e os achados de exames complementares, bem como o tratamento e o acompanhamento; 4) Uma Discussão explicando em detalhes as implicações clínicas do caso em questão, e confrontando com dados da literatura, incluindo casos semelhantes relatados na literatura; 5) Referências bibliográficas. O relato de caso deve ter, no máximo, 20 (vinte) páginas e 30 (trinta) referências.

#### Carta ao editor

Cartas endereçadas ao Editor-Chefe da RBME serão consideradas para publicação se promoverem discussão intelectual sobre um determinado artigo recentemente publicado. As cartas devem conter um título informativo e seguir as instruções acima

para publicação. As cartas devem ter não mais do que 500 palavras. Se aceita, uma cópia será enviada ao autor do artigo original que suscitou a discussão, com um convite para submeter uma réplica que será publicada junto com a carta.

#### Livros para revisão

A RBME estimula as editoras a submeterem livros para apreciação pelo Conselho Editorial. Devem ser enviadas duas cópias do livro ao Editor-Chefe (vide o endereço acima), as quais não serão devolvidas. O envio dos livros não garante a sua apreciação. Contudo, os livros recebidos e não apreciados serão listados no último número de cada ano da Revista. Os livros selecionados para apreciação serão encaminhados para revisores com experiência e competência profissional na respectiva área do livro, cujos pareceres deverão ser emitidos em até três meses e poderão ser adaptados pelos Editores da Revista, sem qualquer interferência das editoras dos livros apreciados. O resultado da apreciação será publicado na Revista juntamente com as informações editoriais do livro.

#### Envio de manuscritos

Rev Bras Med Esporte - Instruções aos autores

<http://www.scielo.br/revistas/rbme/pinstruc.htm>[09/02/2011 13:45:17]

Todos os artigos deverão ser submetidos diretamente no site <http://submission.scielo.br/index.php/rbme>.

Na submissão eletrônica do artigo, os autores deverão anexar como Documento Suplementar:

Termo de Divulgação de Potencial Conflito de Interesses

Termo de Transferência de Direitos Autorais (a seguir)

Não serão aceitas submissões por e-mail, correios ou quaisquer outras vias que não a submissão eletrônica no site supramencionado.