

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

Carlos Eduardo Menezes da Silva

Efeitos de dois diferentes protocolos de natação sobre o metabolismo glicêmico, lipídico e equilíbrio redox em camundongos C57BL/6

MACEIÓ

2016

CARLOS EDUARDO MENEZES DA SILVA

Efeitos de dois diferentes protocolos de natação sobre o metabolismo glicêmico, lipídico e equilíbrio redox em camundongos C57BL/6

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, da Universidade Federal de Alagoas, como requisito parcial para a obtenção do grau de mestre em Ciências da Saúde.

Orientadora: Profa. Dra. Luíza Antas Rabelo

Coorientadora: Profa. Dra Valéria Nunes de Souza

MACEIÓ

2016

**Catálogo na fonte**  
**Universidade Federal de Alagoas**  
**Biblioteca Central**

Bibliotecária Responsável: Janaína Xisto de Barros Lima

- S586e Silva, Carlos Eduardo Menezes da.  
Efeitos de dois diferentes protocolos de natação sobre o metabolismo glicêmico, lipídico e equilíbrio redox em camundongos C57BL/6 / Carlos Eduardo Menezes da Silva. – 2016.  
117 f. : il.
- Orientadora: Luíza Antas Rabelo.  
Coorientadora: Valéria Nunes de Souza.  
Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) – Universidade Federal de Alagoas. Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde. Maceió, 2016.
- Bibliografia: f. 91-116.  
Anexos: f. 117.
1. Natação. 2. Estado Redox. 3. Perfil metabólico. I. Título.

CDU: 612.015.3:796



Universidade Federal de Alagoas  
Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde  
Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde

ICBS - UFAL - Campus A. C. Simões  
Av. Lourival Melo Neto, S/N  
Cidade Universitária - Maceió-AL  
CEP: 57072-900  
E-mail: ppgcs8@gmail.com  
Fone: 82 3214 1850

## Folha de Aprovação

Carlos Eduardo Menezes da Silva

Efeitos de dois diferentes protocolos de natação sobre o metabolismo glicêmico, lipídico e equilíbrio redox em camundongos C57BL/6

Dissertação submetida ao corpo docente do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal de Alagoas e aprovada em 25 de outubro de 2016.

Prof.ª Dr.ª Luiza Antas Rabelo (Orientador)

### Banca Examinadora

Prof.ª Dr.ª Adriana Ximeres da Silva – (UFAL)

Prof. Dr. Aline Priscila Pansani - (UFG)

Dedico aos meus pais (*in memoriam*)  
por todo o amor e dedicação.

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus pela força e direção em todos os caminhos que trilhei até o presente momento;

À Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Luíza Antas Rabelo, pela orientação e muitas horas despendidas neste trabalho, pelos ensinamentos acadêmicos e profissionais, assim como pelos valores éticos e morais. Por ter proporcionado uma imensurável experiência na minha vida que foi de grande importância não só para minha formação profissional, mas também meu amadurecimento pessoal;

À Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Valéria Nunes de Souza, pela coorientação, por ser tão paciente e acessível, sempre esclarecendo as minhas dúvidas e me ensinando muito, sobretudo pelos bons momentos de convivência e contribuição fundamental na realização desse trabalho. Uma referência no meu aprendizado. Obrigado! ;

Agradeço ao auxílio financeiro da CAPES no primeiro ano de desenvolvimento da dissertação;

À Pós-graduação em Ciências da Saúde, em nome da Coordenação e todos os docentes, agradeço o pela contribuição na minha formação;

À Universidade Federal de Alagoas pelo acolhimento desde o início da graduação;

À colega de laboratório Daniela pela participação no experimento que avaliou a atividade da catalase. E contribuição com discussão de artigos científicos e escrita da dissertação;

Ao colega de laboratório Marcos pela realização da dosagem do nitrito;

Aos meus companheiros do Laboratório de Reatividade Cardiovascular, pela companhia, auxílio nesse trabalho e todo apoio. Desde o início, como os ex-integrantes: Glaucivane Guedes, Cheila Juliana, Lucas Fonseca, José Leitão, Alexandre Omena, Flávio Moura, Glauber Schentino, Nelson Miguel, Valdemir Costa, Thamires Alves, Marina Mendes, Eliza Moura, Fernanda Oliveira, Silmara Almeida,

Reidson Beiriz e Carlos Alberto; aos atuais integrantes: Daniela Leonardo, Jaime Dativo, Luciana Melo, Vanessa Neves, Layse Emanuele, Maria Vicência, Wellington Souza, Lucilo Ribeiro, Teresa Liseaux;

À banca examinadora pelo privilégio da presença e generosa contribuição ao trabalho;

A todos os meus professores que sempre me guiaram nos estudos;

À minha irmã, Cláudia A. Menezes Salgado, por sempre me encorajar, incentivando-me e torcendo pelo meu crescimento pessoal e profissional;

Aos meus pais, sem os quais eu não teria motivos para continuar e concluir esta etapa de minha formação acadêmica;

Aos meus amigos, pelo estímulo constante que recebi;

Não menos importante, agradeço aos animais utilizados na pesquisa, os quais, sem escolha, deram sua vida pelo avanço e desenvolvimento científico;

Aos demais que porventura posso ter esquecido;

Enfim, agradeço a todos que de forma direta ou indireta contribuíram para que mais uma etapa de minha vida fosse concluída.

Meus sinceros agradecimentos!

“Quando se quer algo verdadeiramente e com suficiente força, acaba-se por consegui-lo sempre.”

*Herman Hesse (1997)*



## RESUMO

O exercício aeróbio é uma ferramenta relevante no combate ao estresse oxidativo. Estudos demonstram que o exercício físico regular produz efeitos antioxidantes, bem como reduzem a incidência de doenças associadas ao desequilíbrio redox. Diante disso, o objetivo deste estudo foi investigar os efeitos de dois diferentes protocolos de natação sobre o estresse oxidativo e parâmetros metabólicos. Camundongos machos C57BL/6 (12-16 semanas de idade) foram aleatoriamente divididos em quatro grupos: dois controles sedentários (CT4 e CT8; n=4) e dois submetidos à natação (T4 e T8; n=6). O grupo T4 nadou 90 minutos/sessão, 2 vezes por dia, 5 dias/semana, durante 4 semanas. O grupo T8 nadou 90 minutos/sessão, 1 vez por dia, 5 dias/semana, durante 8 semanas. Os camundongos foram sacrificados para análise metabólica e do "status" redox. Os dados obtidos foram expressos como média  $\pm$  EPM. ANOVA de uma via foi utilizada para análise estatística. A natação realizada durante 8 semanas diminuiu significativamente o peso corporal comparado ao grupo sedentário, ao contrário do observado no grupo treinado por 4 semanas. Interessantemente, observou-se um aumento significativo no tecido adiposo marrom nos animais dos dois protocolos de natação quando comparados aos respectivos grupos controle. Por outro lado, os níveis de colesterol e de ácidos graxos não esterificados não diferiram entre os grupos. No entanto, os níveis plasmáticos de triglicerídeos e VLDL diminuíram significativamente após 4 semanas de natação, contrário aos grupos de 8 semanas que não diferiram em níveis de triglicerídeos e VLDL. Além disso, ambos os protocolos de treinamento diminuíram significativamente a peroxidação lipídica no plasma. No grupo T4, o índice de resistência à insulina foi significativamente menor comparado ao CT4, sugerindo melhora no perfil glicêmico. No fígado, a peroxidação lipídica, os níveis de nitrito e a atividade da arginase não diferiram entre os grupos, mas a atividade catalase aumentou significativamente em T8 comparado a CT8. No músculo gastrocnêmio, a atividade da catalase e arginase, bem como os níveis de nitrito não diferiram entre os grupos. Entretanto, a peroxidação lipídica e a atividade da superóxido dismutase diminuíram significativamente após o protocolo de 8 semanas de natação. Em conclusão, os resultados sugerem que a duração e a frequência de exercício físico modulam diferentemente a capacidade antioxidante e o metabolismo lipídico e glicêmico.

**Palavras-Chave:** Natação. Estado Redox. Metabolismo lipídico. Metabolismo glicêmico.

## ABSTRACT

The aerobic exercise is a powerful tool to combat oxidative stress. Several studies have shown that regular exercise produces antioxidant effects and appears to reduce the incidence of diseases associated with redox imbalance. That way, our aim was to investigate effects of swimming training on oxidative stress and metabolic parameters. Twenty male C57Bl/6 mice (12-16 weeks old), were randomly divided into four groups: two sedentary control (CT4 and CT8; n=4 per group) and two swimming groups (T4 and T8; n=6 per group). Group T4 swam 90 minutes/session, 2 times per day, 5 days/week for 4 weeks. Group T8 swam 90 minutes/session, 1 times per day, 5 days/week for 8 weeks. The animals were sacrificed for analysis of metabolic and antioxidant status. Data are expressed as mean $\pm$ SEM. ANOVA one way was used for statistical analysis. Swimming for 8 weeks was able to decrease significantly the body weight compare to sedentary group, the opposite was observed in the group trained for 4-week. Interestingly, we observed a significant increase in brown adipose tissue in animals of both protocols swimming compared to their respective control groups. On the other hand the plasma lipid profile showed that the levels of cholesterol and non-esterified fatty acid did not differ between the groups. However, plasma triglycerides and VLDL levels were significantly decreased after 4 weeks of swimming, contrary to the 8-week groups did not differ in levels of triglycerides and VLDL. In addition, both protocols decreased the plasma lipid peroxidation. In T4 group, insulin resistance index was significantly lower than, suggesting improvement in glycemic profile. At the liver, lipid peroxidation did not differ between the groups, but catalase activity was significantly increased in T8 compare to CT8. In gastrocnemius muscle, the activity of catalase and arginase and nitrite levels did not differ between groups. However, lipid peroxidation and superoxide dismutase activity decreased significantly after 8 weeks of swimming protocol. In conclusion, the results showed that the duration and frequency of physical exercise modulates unlike antioxidant activity and lipid and glycemic metabolism.

**Key-words:** Swimmin. REDOX status. Metabolic profile.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Via da sinalização celular da insulina.....	32
Figura 2 -	Controle da lipólise e lipogênese.....	37
Figura 3 -	Vias de formação de ERONs.....	40
Figura 4 -	Reação catalisada pela NOS.....	42
Figura 5 -	Síntese da uréia.....	43
Figura 6 -	Produção de Espécies Reativas de Oxigênio através da Cadeia Transportadora de Elétrons.....	47
Figura 7 -	Mecanismo de produção de radicais livres pela ação da xantina oxidase.....	49
Figura 8	Delineamento experimental.....	55
Figura 9 -	Desenho do tanque de vidro para construção do sistema de natação para camundongos proposto por LRC/UFAL (2016).....	56
Figura 10 -	Visão superior do sistema de natação para camundongos, construído com adaptações realizadas pelo nosso grupo.....	57

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Esquema das variáveis de treinamento de natação utilizado no presente estudo.....	58
Tabela 2 -	Esquema demonstrativo do protocolo de treinamento físico utilizado no presente estudo.....	59
Tabela 3 -	Características biométricas dos camundongos submetidos ao protocolo de natação por 4 e 8 semanas.....	67
Tabela 4 -	Características teciduais dos camundongos submetidos ao protocolo de natação de 4 e 8 semanas.....	68

## LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 -	Peso corporal dos camundongos submetidos ao protocolo de natação de 4 e 8 semanas.....	66
Gráfico 2 -	Avaliação do perfil glicêmico dos camundongos submetidos ao protocolo de natação de 4 e 8 semanas.....	69
Gráfico 3 -	Avaliação do perfil lipídico plasmático dos camundongos submetidos ao protocolo de natação de 4 e 8 semanas.....	70
Gráfico 4 -	Avaliação do status redox no fígado dos camundongos submetidos ao protocolo de natação de 4 e 8 semanas.....	71
Gráfico 5 -	Avaliação do status redox no plasma dos camundongos submetidos ao protocolo de natação de 4 e 8 semanas.....	72
Gráfico 6 -	Avaliação do status redox no músculo dos camundongos submetidos ao protocolo de natação de 4 e 8 semanas.....	73

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AF	Atividade física
AGNE	Ácidos graxos não esterificados
AKT	Proteína quinase B
ALT	Alanina aminotransferase
AST	Aspartato aminotransferase
ANOVA	Análise de variância
BHT	Hidroxitolueno butilado
BH4	Tetrahydrobiopterina ( <i>Tetrahydrobiopterin</i> )
CAT	Catalase
COL	Colesterol total
CT	Controle
CTE	Cadeia transportadora de elétrons
EFA	Exercício físico aeróbico
eNOS	Sintase do óxido nítrico endotelial ( <i>endothelial Nitric Oxide Synthase</i> )
EPM	Erro padrão da média
ERN	Espécies Reativas de Nitrogênio
EROs	Espécies Reativas de Oxigênio
ERONs	Espécies Reativas de Oxigênio e Nitrogênio
GLUT	Transportadores de glicose ( <i>Glucose transporters</i> )
GPx	Glutathiona peroxidase
HDL	Lipoproteína de alta densidade ( <i>High Density Lipoprotein</i> )
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Peróxido de hidrogênio
ICBS	Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde
IDF	Federação Internacional de Diabetes ( <i>International Diabetes Federation</i> )
IL-6	Interleucina 6
iNOS	Sintase do óxido nítrico induzida
i.p.	Intraperitoneal
IDL	Lipoproteína de densidade intermediária ( <i>Intermediate Density Lipoprotein</i> )

IMC	Índice de massa corpórea
IRS1	Substrato do receptor da insulina 1 ( <i>insulin receptor substrate 1</i> )
IRS2	Substrato do receptor da insulina 2 ( <i>insulin receptor substrate 2</i> )
LDL	Lipoproteína de baixa densidade ( <i>Low Density Lipoprotein</i> )
LPL	Lipase lipoproteica ( <i>lipoprotein lipase</i> )
LRC	Laboratório de Reatividade Cardiovascular
MeOH	Metanol
MDA	Malonildialdeído
MDC	Max Delbrück Center for Molecular Medicine
NaCl	Cloreto de sódio
NADPHox	Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato oxidase ( <i>nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase</i> )
nNOS	Sintase do óxido nítrico neuronal
$\cdot\text{NO}$	$\cdot\text{NO}$ Óxido nítrico ( <i>Nitric Oxide</i> )
$\text{NO}_2^-$	Nitrito
$\text{NO}_3^-$	Nitrato
NOS	NOS Sintase do óxido nítrico
$\text{O}_2$	Oxigênio molecular
$\cdot\text{O}_2^-$	Ânion radical superóxido
$\text{OH}\cdot$	Radical hidroxil
OMS	Organização Mundial da Saúde
$\text{OONO}^-$	Peróxido nitrito
PA	Pressão arterial
PBS	Solução fosfato tamponada ( <i>Phosphate Buffer Solution</i> )
PI3-k	Fosfoinositol-3-kinase
PKC	Proteína cinase C
PTNs	Proteínas
RI	Resistência à insulina
RIPA	Tampão para radioimunoprecipitação ( <i>radioimmunoprecipitation assay buffers</i> )
rpm	Rotações por minuto
STZ	Estreptozotocina
SOD	Superóxido dismutase

TBA	Ácido tiobarbitúrico ( <i>thiobarbituric acid</i> )
TBARS	Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico ( <i>thiobarbituric acid reactive substances</i> )
TG	Triglicerídeos
TNF- $\alpha$	Fator de necrose tumoral alfa ( <i>Tumor Necrosis Factor alpha</i> )
TyG	Triglicerídeos por glicemia
UFAL	Universidade Federal de Alagoas
UI	Unidade internacional
VLDL	Lipoproteína de muita baixa densidade ( <i>Very Low Density Lipoprotein</i> )
$\gamma$ -GT	Gama glutamiltransferase
XO	Xantina oxidase



## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>19</b>
<b>1.1 Problematização</b> .....	<b>19</b>
<b>1.2 Justificativa</b> .....	<b>23</b>
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	<b>25</b>
<b>2.1 Objetivo geral</b> .....	<b>25</b>
<b>2.2 Objetivos específicos</b> .....	<b>25</b>
<b>3 REVISÃO DA LITERATURA</b> .....	<b>26</b>
<b>3.1 Aspectos conceituais de Atividade Física e Exercício Físico</b> .....	<b>26</b>
<b>3.2 Exercício Físico Aeróbico: uma breve revisão</b> .....	<b>27</b>
<b>3.3 Exercício Físico Aeróbico e Metabolismo Glicêmico</b> .....	<b>29</b>
<b>3.4 Papel do Exercício Físico Aeróbico no Metabolismo Lipídico</b> .....	<b>33</b>
<b>3.5 Efeitos do Exercício Físico Aeróbico: papel da sinalização redox</b> .....	<b>38</b>
3.5.1 Exercício Aeróbico: papel do eixo <sup>•</sup> NO/Arginase.....	41
3.5.2 Mecanismos de formação de ERONs.....	46
<b>3.6 MODELOS EXPERIMENTAIS DE TREINAMENTO FÍSICO</b> .....	<b>50</b>
<b>4 MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>54</b>
<b>4.1 Aspectos éticos</b> .....	<b>54</b>
<b>4.2 Grupo amostral</b> .....	<b>54</b>
<b>4.3 Sistema de natação para camundongos</b> .....	<b>55</b>
<b>4.4 Treinamento físico</b> .....	<b>57</b>
<b>4.5 Peso corporal</b> .....	<b>59</b>
<b>4.6 Avaliações glicêmicas</b> .....	<b>59</b>
<b>4.7 Sacrifício dos animais</b> .....	<b>60</b>
<b>4.8 Peso relativo de órgãos e gordura visceral</b> .....	<b>61</b>
<b>4.9 Perfil lipídico plasmático</b> .....	<b>61</b>

4.9.1 Determinação dos níveis de colesterol total.....	61
4.9.2 Mensuração dos níveis de triglicerídeos.....	61
4.9.3 Dosagem de ácidos graxos não esterificados (AGNE).....	62
<b>4.10 Avaliação do estado redox no plasma e no tecido hepático e muscular.....</b>	<b>62</b>
4.10.1 Obtenção do homogenato tecidual.....	62
4.10.2 Peroxidação lipídica.....	63
4.10.3 Mensuração da atividade da superóxido dismutase (SOD).....	63
4.10.4 Mensuração da atividade da catalase (CAT).....	64
4.10.5 Mensuração da atividade da arginase.....	64
4.10.6 Mensuração de níveis de nitrito.....	64
<b>4.11 ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....</b>	<b>64</b>
<b>5. RESULTADOS.....</b>	<b>66</b>
<b>5.1 Peso corporal e avaliação do perfil biométrico dos animais.....</b>	<b>66</b>
<b>5.2 Perfil glicêmico.....</b>	<b>68</b>
<b>5.3 Perfil lipídico plasmático.....</b>	<b>69</b>
<b>5.4 Perfil Redox hepático.....</b>	<b>70</b>
<b>5.5 Perfil Redox plasmático.....</b>	<b>71</b>
<b>5.6 Perfil Redox no músculo gastrocnêmio.....</b>	<b>72</b>
<b>6 DISCUSSÃO.....</b>	<b>74</b>
<b>7 CONCLUSÃO.....</b>	<b>89</b>
<b>8 PERSPECTIVAS.....</b>	<b>90</b>
<b>9 LIMITAÇÕES DO ESTUDO.....</b>	<b>91</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>92</b>
<b>ANEXO.....</b>	<b>118</b>

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 Problematização

De acordo com a observação dos dados da Organização Mundial da Saúde (OMS), nas últimas décadas, das 50 milhões de mortes, 30% destas foram decorrentes das Doenças Cardiovasculares (DCV), o que responde a 17 milhões de óbitos (BEAGLEHOLE, 2008; BUTTLER, 2011). Responsável por cerca da metade das doenças crônicas não transmissíveis (DCNT), as quais em muitos países ultrapassaram a prevalência de doenças transmissíveis neste século, a DCV é considerada, hoje, como causa líder global de mortalidade e responde por 17,3 milhões de mortes por ano, um número que, por estimativas, deverá crescer para mais de 23,6 milhões até 2030 (SMITH et al., 2012; WHO, 2014; AHA, 2015).

No Brasil, estes agravos, dentre todas as outras causas relacionadas, correspondem a cerca de um terço de todas as mortes, representando a primeira causa de óbito (COLTRO et al., 2009; MANSUR; FAVARATO, 2012; WHO, 2015). No Brasil, as DCVs são as principais causas de morte entre homens e mulheres - responsáveis por cerca de 31% de todas as mortes (RIBEIRO et al., 2016).

Com o progresso tecnológico, possivelmente, substituiu-se atividades físicas de lazer e/ou esportivas pelo comodismo e por atividades sedentárias, como vídeo games, televisão e outros mais, contribuindo sobremaneira para a redução no nível de atividade física o que é uma tendência preocupante, visto que o estilo de vida sedentário é responsável por um número expressivo de mortes anualmente (SHARKEY, 1997; SAME et al., 2016). Tal avanço industrial e tecnológico propicia a adoção de um comportamento sedentário (FLORINDO et al., 2009; WILMOT et al., 2012).

O que parece facilitar a vida da população, também tende a diminuir sua qualidade de vida, pois a adoção de um estilo de vida sedentário influencia negativamente a saúde, principalmente, por estar ligada à maior prevalência de doenças crônico-degenerativas, cardiometabólicas, respiratórias e articulares, além de distúrbios sociais e psicológicos, bem como fatores de riscos associados a estes agravos (BAKER et al, 2007; WILMOT et al., 2012; YOUNG et al., 2016).

Sedentarismo, etilismo, tabagismo e/ou a alimentação inadequada, acentuam os riscos de doenças (OMS, 2010). Segundo a OMS, a inatividade física representa o

quarto maior fator de risco de mortalidade em todo o mundo, atrás apenas do diabetes, tabagismo e hipertensão (OMS, 2009; LEE e al., 2012). Entretanto, é cientificamente comprovado que a prática de atividade física regular, pode influenciar fortemente vários desses fatores supracitados, propiciando benefícios à saúde. Em particular, a prática do exercício físico aeróbico é recomendada para prevenção e tratamento de doenças e promoção da saúde, pois reduz os fatores de risco cardiovascular, contribui para o controle ponderal, melhora o controle glicêmico, auxilia no controle metabólico em geral, mobiliza as reservas lipídicas e melhora o bem-estar geral (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2010).

Nesse cenário, evidências apontam para fatores que contribuem para a longevidade como fundamentais para a promoção da saúde cardiovascular, destacando-se aqueles genéticos, estilos de vida saudáveis, como dieta balanceada, exercícios e redução do estresse (SANTHANAM et al., 2008). Corroborando com o exposto, a prática regular de atividade física é fundamental para a manutenção da saúde e prevenção e/ou tratamento das DCV (ZAGO; ZANESCO, 2006). Embora os benefícios de saúde promovidos pelo exercício físico sejam relatados extensivamente (DE ANGELIS et al, 2000; KEMI et al., 2004; MOSTARDA et al., 2009; BATAKAN Jr et al., 2016), é importante entender a frequência e duração do exercício necessário para atingir efeito positivo no perfil lipídico, glicêmico e no equilíbrio redox.

Neste sentido, o estresse oxidativo é um assunto amplamente difundido na atualidade, uma vez que está intimamente ligado à ocorrência de algumas doenças, tais como aterosclerose, câncer, e também ao processo de envelhecimento (PISOSCHI; POP, 2015) que, de acordo com Ortuño-Sahagún, Pallàs & Rojas-Mayorquin (2014) é o resultado de mudanças no estado redox, com predomínio dos sistemas orgânicos pró-oxidantes sobre os antioxidantes.

Concernente ao equilíbrio redox, sabe-se que o exercício físico aumenta o consumo de oxigênio, ocasionando geração elevada de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio (ERONs) mais do que é continuamente formado pelos processos normais do metabolismo. Destaca-se a importância do treinamento físico aeróbico que não apenas aumenta o consumo de oxigênio, mas também por consequência a geração de ERONs, podendo causar desequilíbrio REDOX (DRÖDGE, 2002; URSO; CLARKSON, 2003), cuja resposta parece ser dependente da duração, intensidade e tipo de exercício realizado (SCHNEIDER et al., 2005). Neste sentido se ocorre um desequilíbrio entre os sistemas pró-oxidantes e antioxidantes, de maneira que o

primeiro seja predominante, pode-se dizer que o organismo se encontra em estresse oxidativo (SIES, 1986; ORTUÑO-SAHAGÚN, PALLÀS & ROJAS-MAYORQUÍN, 2014).

Nesse sentido, pesquisas mostram que exercício extenuante induz desequilíbrio entre produção de EROs e defesas antioxidantes. Por outro lado, o exercício físico leve a moderado vem sendo indicado como causador de um desequilíbrio REDOX temporário (WISLOFF et al, 2007), caso estes sejam praticados de semanas a meses, melhora o perfil lipídico e glicêmico no plasma e aumenta os antioxidantes endógenos (KADOGLU et al, 2007).

Em consonância com a literatura, a aquisição de um estilo de vida saudável, com a prática de exercício físico de forma regular, monitorado e supervisionado, é eficaz como um agente terapêutico e/ou de prevenção para várias situações de morbidade, como síndrome metabólica (ELEUTÉRIO-SILVA et al., 2013), obesidade, diabetes e com a conseqüente diminuição da mortalidade associada a eles (CHUDYK; PETRELLA, 2011).

Nesse entendimento, estudos com modelos animais figuram com relevância para o entendimento dos mecanismos e/ou ações relacionadas à melhora da função cardiovascular e metabólica mediadas pela prática do exercício físico (WANG et al., 1993; SUN et al., 1994, 1998; MINAMI et al., 2002).

Neste sentido, vários estudos têm mostrado que o exercício físico regular produz efeitos antioxidantes diretos e parece diminuir a incidência de uma grande variedade de doenças associadas as EROs, tais como doenças cardiovasculares (YOUNG et al, 2014), o diabetes (KIVELÄ et al, 2006), doença de Alzheimer (SOUZA et al, 2013), doença de Parkinson (DUTRA et al, 2012), dentre outras.

Embora existam benefícios bem estabelecidos na literatura, salienta-se a importância de estudar a seguinte questão: com o aumento no consumo do oxigênio, que é maior durante o exercício, podendo chegar a 20 vezes mais em relação ao repouso, assim seguido por um concomitante aumento na produção de radicais livres (RL) (ALESSIO e GOLDFARB, 1998) e gerando o estresse oxidativo, levanta-se a questão se este pode ser prejudicial, levando em consideração as variáveis do treinamento físico, neste estudo especificamente, a frequência e a duração.

Sendo assim, destaca-se a busca pelo conhecimento do efeito protetor do exercício físico na melhora das defesas antioxidantes, pois os mecanismos pelos quais o exercício físico mantém e/ ou restaura a função cardiovascular ainda não estão

totalmente conhecidos, embora, acredita-se que o efeito ocorra pelo aumento da liberação de óxido nítrico (\*NO) (MASTELARI, et al., 2011). Assim, com maior produção de agentes vasodilatadores derivados do endotélio, tem-se consequente redução da resistência vascular periférica, inibição da agregação plaquetária e diminuição de níveis de lipoproteína de baixa densidade (LDL - *Low Density Lipoprotein*) (KINGWELL, 2000).

Com relação ao metabolismo glicêmico, lipídico e equilíbrio redox em resposta ao exercício físico, faz-se relevante avaliar *in locu*, a exemplo do músculo esquelético, fígado e plasma, as alterações mediadas por diferentes protocolos de treinamento físico de natação em animais roedores.

Diante das premissas elencadas, este estudo visa contribuir para a elucidação dos mecanismos relacionados ao exercício físico regular e o equilíbrio REDOX. Neste sentido, considera-se importante avaliar adaptações fisiológicas induzidas pelo exercício físico, estudando-se os efeitos de dois protocolos de treinamento aeróbio em um modelo murino para natação com tempos diferentes de treinamento.

## 1.2 Justificativa

Segundo projeções da OMS, até o ano de 2030, as doenças cardiovasculares serão as principais causas de morte no mundo, atingindo índices de, aproximadamente, 35% da população mundial (OMS, 2009, 2012). Dessa forma, estudar os efeitos do exercício físico é relevante quando se considera o envolvimento do estresse oxidativo com vários agravos.

Estudos experimentais recentes verificaram os efeitos do exercício físico no equilíbrio REDOX (CARDOSO et al., 2013; CHOI; CHO, 2014), no metabolismo lipídico (MEISSNER et al., 2010; MOTTA & MANDARIM-DE-LACERDA, 2012), bem como glicêmico (HALL et al., 2013; DOTZERT et al., 2016), decorrente do exercício físico de predominância aeróbia. Uma vez que o exercício físico é atualmente utilizado como um adjuvante na prevenção e tratamento de diversas patologias/alterações cardiometabólicas, é relevante que mais pesquisas sejam realizadas nesta área. Portanto, acredita-se que a utilização de modelos animais é uma alternativa importante para este tipo de pesquisa, por permitir a aplicação de protocolos melhor controlados e com resultados em um menor período de tempo, bem como se estudar possíveis mecanismos envolvidos.

Neste sentido, pesquisas indicam que exercício físico também pode ser uma alternativa no tratamento e na prevenção das doenças crônicas, assim como em suas complicações. Nesta direção, a literatura estabelece que exercício físico regular produz efeitos antioxidantes e parece diminuir a incidência de uma grande variedade de doenças associadas a ERONs, tais como doenças cardiovasculares (YOUNG et al., 2014), o diabetes (KIVELÄ et al., 2006), doença de Alzheimer (SOUZA et al., 2013), e doença de Parkinson (DUTRA et al., 2012). Desta forma, pesquisas buscam alternativas para amenizar os efeitos prejudiciais do desequilíbrio redox/estresse oxidativo, melhorando a capacidade antioxidante do organismo.

Neste cenário, acredita-se que a verificação e/ou controle de biomarcadores de estresse oxidativo podem ser ferramentas úteis no que se refere ao diagnóstico de possíveis condições deletérias à saúde, com o objetivo de desenvolver estratégias terapêuticas eficazes e benéficas, bem como de melhorar a prescrição de exercícios para beneficiar a saúde.

Assim uma estratégia não farmacológica eficaz na redução do estresse oxidativo e prevenção de doenças metabólicas associadas a ele, é o treinamento

físico aeróbico, considerando-se a relevância do controle das variáveis de treinamento como o tipo, duração, frequência, intensidade e caráter agudo ou crônico dos exercícios físicos, a fim de verificar quais delas podem ou não estimular respostas benéficas.

Em relação às adaptações promovidas pelo treinamento físico aeróbico, os parâmetros de estresse oxidativo, bem como fatores determinantes do metabolismo glicêmico e lipídico, não estão completamente elucidados. Assim, novos estudos acerca das respostas provocadas por protocolos com diferentes tempos de treinamento físico são necessários, associando-os a possíveis marcadores bioquímicos de estresse oxidativo. Diante disso, espera-se que os resultados obtidos possam aumentar o conhecimento e que contribuíssem na aplicação de medidas que busquem a melhora na saúde e na qualidade de vida da população em geral. Neste sentido, esta pesquisa pode contribuir com informações relevantes, pois intervenções que não podem ser realizadas em humanos tem-se como possível forma de obter respostas a utilização do modelo animal, submetendo-o a protocolos de exercício físico para investigar seus efeitos.

Neste contexto, os modelos murinos têm destaque devido, principalmente, à semelhança genética com o homem e à facilidade de manejo como tamanho, necessidade de menor espaço, rápida reprodução (MOLNAR et al., 2005; ANSTEE & GOLDIN, 2006; FITZGERALD et al., 2007; CONG et al., 2008), sendo o modelo proposto neste trabalho para avaliar os efeitos do treinamento físico aeróbico de natação.



## **2. OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo geral**

Avaliar os efeitos de dois diferentes protocolos de natação sobre o perfil metabólico e o equilíbrio redox em camundongos C57BL/6.

### **2.2 Objetivos específicos**

- Construção de um sistema de natação para camundongos;
- Avaliar o efeito dos dois diferentes protocolos de natação em camundongos sobre:
  - O perfil biométrico desses animais (peso corporal e peso tecidual);
  - O perfil lipídico plasmático através da mensuração de colesterol, triglicerídeos, ácidos graxos não esterificados e lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL);
  - O perfil glicêmico através da mensuração da glicemia de jejum e do índice de avaliação de sensibilidade à insulina (TyG);
  - O equilíbrio redox através da mensuração da peroxidação lipídica, da atividade das enzimas catalase, arginase e os níveis de nitrito nos tecidos hepático e muscular, e a atividade da SOD no músculo;
  - O equilíbrio redox através da mensuração da peroxidação lipídica, da atividade das enzimas catalase e arginase no plasma.

### 3. REVISÃO DA LITERATURA

#### 3.1 Aspectos conceituais de Atividade Física e Exercício Físico

Boa parte da comunidade trata os termos atividade física e exercício físico como sinônimo. Entretanto, à literatura científica tem tratado esses conceitos de forma diferenciada.

Nessa primeira etapa da revisão de literatura, atentou-se a descrever os termos atividade física e exercício físico. Assim, destaca-se que a revisão aqui apresentada tomou um caráter informativo e descritivo.

Segundo o ACSM (2013), a atividade física pode ser considerada como qualquer tipo de movimentação corporal capaz de produzir elevação do gasto metabólico energético. Para Caspersen e colaboradores (1985), Barros e Nahas (2003), a atividade física pode ser classificada em quatro domínios: 1) como atividades de lazer; 2) como meio de transporte; 3) como atividade de trabalho e; 4) atividades domésticas. Desta forma, estas são atividades simples, do cotidiano, que realizamos, por exemplo: caminhar, limpar a casa e/ou local de trabalho, subir e descer escadas, etc.; ou complexas como as atividades praticadas em academias, escolas de esportes, etc.

Por outro lado, o exercício físico se apresenta como um tipo de atividade física planejada, estruturada e organizada com objetivo de manutenção, ou melhor, condicionamento físico (MORENO et al., 1997). Além disso, é uma atividade de forma repetitiva que visa objetivos pré-definidos, com uma frequência, duração e intensidade pré-determinados como, por exemplo, a melhoria ou o desenvolvimento de um ou mais componentes da aptidão física (CASPERSEN et al., 1985; MATSUDO et al., 2005). Estes componentes, por sua vez, incluem (1) aqueles relacionados à saúde, como aptidão cardiorrespiratória, flexibilidade, força e resistência muscular, composição corporal; aqueles relacionados à performance motora, como agilidade, velocidade e capacidade anaeróbica (NAHAS, 2003).

Assim, atividade física é definida como qualquer movimento do corpo humano produzido pelo músculo esquelético, resultando em aumento do dispêndio energético (CASPERSEN; POWELL & CHRISTENSON, 1985). Já o exercício físico é assim um subtipo de atividade física (AF), que é planejada, estruturada, repetitiva e tem por objetivo melhorar ou manter a aptidão e a saúde (CASPERSEN; POWELL &

CHRISTENSON, 1985; CHODZKO-ZAJKO et al., 2009; GARBER et al., 2011). Desta forma, a expressão “exercício físico” aplica-se a uma variedade de atividades físicas, que diferem largamente quanto à sua intensidade, duração e quanto às capacidades exigidas para a sua prática.

No cenário exposto, observa-se que a prática de atividade física é muito estudada, principalmente, porque esta não requer grandes estruturas físicas, equipamentos e controle refinado da intensidade, além da acessibilidade e facilidades à maior parte da população aos benefícios para a saúde (BLAIR et al., 2004; STRONG et al., 2005). De igual maneira, o exercício físico que requer maior planejamento, controle mais refinado de frequência, duração e intensidade e, necessita de equipamentos e estrutura física (STRONG et al., 2005), também tem sido amplamente estudado e estabelecido na literatura.

Estabelecidos na literatura, atividade física e exercício físico, ambos os termos são úteis e aplicáveis para o aprimoramento da saúde, sendo o termo exercício físico o mais empregado no presente estudo.

### **3.2 Exercício físico: uma breve revisão**

Atualmente, o exercício físico é uma necessidade absoluta para o homem, pois, com o desenvolvimento científico e tecnológico advindo da revolução industrial e da revolução tecnológica, pela qual passamos, deparamo-nos com elevado nível de estresse, ansiedade e sedentarismo que compromete a saúde de boa parte das populações de países desenvolvidos e em desenvolvimento (ANTUNES et al., 2006). Neste contexto, o grande e crescente volume de investigações científicas demonstra que o exercício físico proporciona inúmeros benefícios à saúde. Sabe-se que desde 1970, instituições internacionais e agências governamentais elaboraram recomendações (WARBURTON et al. 2007). São diretrizes internacionais, amplamente, conhecidas e adotadas, tendo cinco como as principais: *American College of Sports Medicine (ACSM)* (2013); Comitê Consultivo do Questionário Internacional de Atividade Física (*International Physical Activity Questionnaire, IPAQ*) (2005); *Institute of Medicine (IOM)* (2004); diretriz da União Europeia (UE) (2008) e Organização Mundial da Saúde (OMS) (2010).

Nas diretrizes supracitadas, há recomendações divergentes no que concerne à constituição e à administração da dose mínima de esforço (PATE et al., 1995;

HASKELL et al., 2007), tratando-se de variáveis como duração, frequência e intensidade, cujas orientações são diferentes. Algumas diferenças entre as recomendações podem ser explicadas, em parte, pelo interesse em diferentes desfechos. Algumas foram baseadas no efeito protetor da atividade física, outros relacionados ao controle da obesidade (LIMA; LEVY; LUIZ, 2014). Ressalta-se que as recomendações das diretrizes internacionais adotadas e praticadas corretamente devem proporcionar benefícios substanciais à saúde para população adulta em geral.

O exercício físico pode ser dividido em anaeróbico e aeróbico, de acordo com a predominância dos substratos energéticos empregados na realização da atividade. Exemplos de exercícios anaeróbicos incluem treinamento de força ou treinamento resistido, frequentemente chamado de musculação; enquanto os exercícios aeróbicos são caminhar, correr, andar, pedalar, nadar, dançar, entre outros (SIDDIQUI; NESSA & HOSSAIN, 2010).

De natureza contínua e dinâmica, o exercício físico aeróbico demanda um período de tempo prolongado e na sua execução envolve grandes grupos musculares (BERMUDES, 2004). Ou seja, o exercício físico aeróbico (EFA), especificamente, refere-se aqueles que mobilizam grandes grupos musculares de forma rítmica e durante longos períodos de tempo, como na corrida, natação, ciclismo ou marcha (CHODZKO-ZAJKO et al., 2009; GARBER et al., 2011; MENDES et al., 2011).

Destaca-se que a maioria dos programas de exercício físico estudados experimentalmente e que são aplicados aos seres humanos, trata-se de esquemas de treinamento. Ou seja, atividades físicas envolvendo exercícios físicos praticados de forma planejada e sistemática.

O treinamento físico aeróbico promove um impacto extremamente positivo sobre o indivíduo que o pratica, promove adaptações fisiológicas centrais e periféricas, respectivamente, no sistema cardiovascular e metabolismo muscular, tanto em repouso como durante o exercício físico submáximo e máximo (CLAUSE, 1977), o que demonstram os estudos realizados com humanos (HOLLOSZY; COYLE, 1984; CLAESSENS et al., 1999) e com animais experimentais (SHAIBLE; SHEUER, 1979). É importante lembrar que algumas respostas adaptativas reforçam a necessidade de regularidade.

Vários estudos têm mostrado que o exercício físico praticado regularmente produz efeitos antioxidantes e parece diminuir a incidência de uma grande variedade de doenças associadas as ERONs, tais como doenças cardiovasculares (YOUNG et

al, 2014), o diabetes (KIVELÄ et al, 2006), doença de Alzheimer (SOUZA et al, 2013), e doença de Parkinson (Dutra et al, 2012). No entanto, o excesso de exercício físico ou mesmo o grande volume de atividade física, conforme levantado por Talbot e colaboradores (2007), este pode desencadear efeitos indesejáveis à saúde, como lesões, desgastes e exaustão.

Neste contexto, um aspecto que merece destaque é o fato do treinamento físico aeróbio estar associado a adaptações nas capacidades funcionais relacionadas com o transporte e utilização do oxigênio, principalmente nos sistemas cardiovascular e respiratório (McARDLE, KATCH e KATCH, 2003). Isto porque o exercício de caráter aeróbio tem como objetivo aumentar o consumo de oxigênio pelos tecidos ( $VO_2$ ), regulado pela capacidade máxima dos sistemas pulmonar e cardiovascular na captação e transporte do oxigênio ( $VO_{2max}$ ) para os tecidos (BOWEN; CARNER, 1926; LOMBARDO et al., 1953), assim como a capacidade de utilização para a oxidação de substratos energéticos, como lipídios e carboidratos (HAVEL et al., 1963). Assim, o sistema aeróbio libera energia para a produção de ATP devido à desintegração de carboidratos e de gorduras (FOX, BOWERS & FOSS, 1991).

Dadas as evidências, uma pergunta centra-se na quantidade e intensidade do exercício que fornece benefícios à saúde. De acordo com Evangelista e colaboradores (2003), a combinação das variáveis determinantes da quantidade de treino às características fisiológicas da espécie animal é fundamental para a obtenção das adaptações resultantes do treinamento físico e também para influenciar na magnitude das respostas.

Nesse contexto, considera-se a necessidade de melhor entender os efeitos que o exercício físico promove sobre variáveis do perfil metabólico e o equilíbrio redox.

### **3.3 Exercício Físico Aeróbio e metabolismo glicêmico**

A glicose é um combustível importante para o funcionamento normal do corpo e a sua regulação é um processo que envolve órgãos como o pâncreas, fígado, músculo esquelético e tecido adiposo. De acordo com Rizza (2010), os níveis de glicose no sangue são determinados pelo equilíbrio entre a saída de glicose do fígado e a captação de glicose pelo músculo, tendo a insulina um papel importante nesse processo, respectivamente, suprimindo a saída e estimulando sua captação. A insulina é um hormônio anabólico secretado pelas células  $\beta$ -pancreáticas localizadas

nas ilhotas de langerhans e tem a função principal de regular o metabolismo da glicose pelos tecidos do corpo (WILCOX, 2005).

As primeiras evidências que deram origem aos estudos sobre metabolismo glicêmico foram de Chaveuau e Kaufman (1887). Em cavalos, estes autores mostraram o efeito favorável da contração muscular na captação da glicose, o qual incentivou a realização de mais estudos para entender tal efeito. Assim, Burn e Dale (1924) demonstraram que o efeito da ação metabólica da insulina se assemelha com o efeito do exercício na captação de glicose pelos músculos. Estes resultados originaram mais investigações com objetivo de elucidar a ação da insulina e o exercício físico na regulação da homeostase da glicose.

Algumas décadas depois, Bjorntorp e colaboradores (1970) relataram que voluntários praticantes de exercício físico tiveram melhora na tolerância à glicose comparado aos voluntários sedentários. Estes dados foram confirmados na década seguinte por Mondon e colaboradores (1980), os quais sugeriram em seu estudo que o exercício regular aumenta a sensibilidade à insulina no músculo e em outros tecidos de roedores. Mais estudos importantes foram desenvolvidos no meio científico no decorrer dos anos seguintes, tendo em destaque Wojtaszewski e colaboradores (1999; 2000) e Luciano (2002) que mostraram maior captação de glicose, mesmo sem o receptor para insulina.

O EFA é ferramenta importante na prevenção e tratamento de agravos à saúde. Uma única sessão de EFA aumenta a disponibilidade de glicose mediada pela ação da insulina em sujeitos saudáveis, em obesos com resistência à insulina, bem como em diabéticos e em indivíduos com resistência à insulina parentes de diabéticos tipo 2. Deste modo, é importante ressaltar que o exercício crônico é capaz de melhorar a sensibilidade à insulina nesses mesmos grupos de sujeitos (ERICKSON et al., 1997).

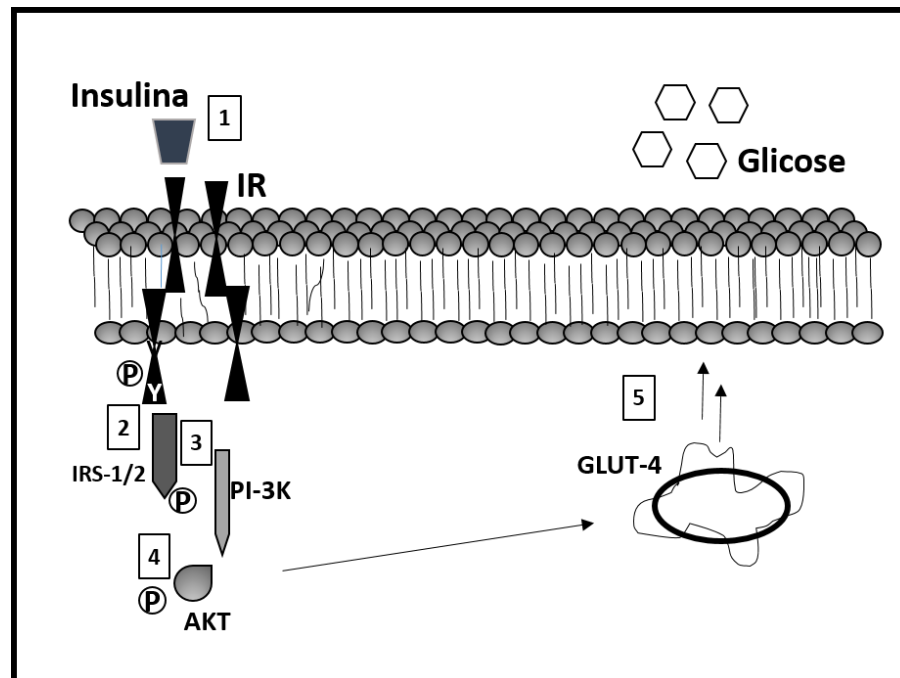
Eriksson e colaboradores (1997) mostraram que o efeito do EFA sobre a sensibilidade à insulina é máximo no período de 12 a 48 horas após a sessão, e após repouso, volta progressivamente aos níveis de pré-atividade, visto em aproximadamente 3 dias. Este estudo foi corroborado pelo estudo de Riddell e colaboradores (2006) que evidenciaram ser uma tendência a diminuição dos valores de glicose sanguínea tanto durante quanto após o exercício. Somado a isso, o EFA regular melhora a sensibilidade à insulina (KIRÁLY et al., 2008; ARANTES et al., 2013). Ademais, vale salientar que grandes volumes de exercícios em sessões únicas

podem desencadear lesões, desgastes e exaustão, ou seja, efeitos indesejáveis à saúde (TALBOT et al., 2007). E conjunto, estes dados reforçam a necessidade de praticar o exercício com regularidade e frequência para obter como possível reposta adaptativa ao treinamento físico, a sensibilidade à insulina incrementada (CIOLAC; GUIMARÃES 2004).

Neste sentido, para melhor compreensão sobre os fenômenos desempenhados pela ação da insulina, é importante o entendimento do que ocorre na sinalização mediada por este hormônio.

A sinalização intracelular da insulina começa com uma ligação específica ao receptor da insulina (IR), composto por duas subunidades  $\alpha$  (extracelulares) e duas subunidades  $\beta$  (localizada na membrana) (PATTI; KAHN, 1998). No início, quando a insulina se liga ao seu receptor este sofre autofosforilação, ativando a função quinase do receptor que propaga o sinal. Uma vez ativado, o IR fosforila vários substratos proteicos em tirosina, incluindo os mais conhecidos IRS-1 e IRS-2 (PESSIN; SALTIEL, 2000; WHITE, 1998). Em seguida, a fosforilação dos IRS cria sítios de reconhecimento, em destaque tem-se a PI-3q (fosfatidilinositol 3-quinase) (BACKER et al., 1992), sua ativação desencadeará a ativação de outras proteínas importantes como a Akt (proteína quinase B), resultando na translocação do GLUT-4 para a membrana celular, permitindo a entrada de glicose (CZECH; CORVERA, 1999) (Figura 1).

**Figura 1 - Via da sinalização celular da insulina**



A insulina é um hormônio anabólico secretado pelas células  $\beta$ -pancreáticas e a sinalização deste peptídeo inicia-se após a ligação deste a um receptor específico da membrana, uma proteína com atividade quinase intrínseca, denominada receptor de insulina (IR), composto por duas subunidades  $\alpha$  (extracelulares) e duas subunidades  $\beta$  (localizada na membrana). Quando a insulina se liga ao seu receptor induz autofosforilação deste, ativando a função quinase do receptor que propaga o sinal (1). Uma vez ativado, o IR fosforila vários substratos proteicos em tirosina, incluindo os mais conhecidos IRS-1 e IRS-2 (2). Em seguida, a fosforilação dos IRS cria sítios de reconhecimento, em destaque tem-se a PI-3K (fosfatidilinositol 3-quinase) (3), sua ativação desencadeará a ativação de outras proteínas importantes como a AKT (proteína quinase B) (4), resultando na translocação do GLUT-4 para a membrana celular, permitindo a entrada de glicose (5).

Fonte: Autor (2016)

A translocação dos principais responsáveis pela captação de glicose circulante e redução da sua concentração no sangue, os GLUT-4, também é estimulada pela prática regular de atividade física. Portanto, a via PI3q/Akt tem um papel importante nos efeitos metabólicos da insulina, como ativar a síntese de glicogênio hepático e muscular, bem como a lipogênese no tecido adiposo (SHEPHARD et al., 1995; PESSIN e SALTIEL, 2000).

Além disso, evidências científicas mostram também uma via de sinalização independente de insulina (via AMPK e/ou outras biomoléculas). A proteína quinase ativada por AMP (AMPK) é uma enzima chave que estimula o transporte de glicose no músculo esquelético por mecanismo independente da insulina. Em resposta ao exercício físico, devido à necessidade de gerar ATP, a atividade aumentada da AMPK



promove a translocação dos GLUT-4 para a membrana, facilitando o transporte de glicose de maneira semelhante à da insulina, embora isto ocorra por diferentes e independentes vias de sinalizações. De maneira semelhante, mais moléculas estão envolvidas no mecanismo de sinalização em resposta ao exercício, como a atividade da óxido nítrico sintase (NOS) e a síntese de  $\text{NO}$ , o aumento da concentração de íon cálcio intracelular que podem estimular a captação de glicose pela translocação do GLUT-4 para a membrana durante contração muscular (WICKLMAYR et al., 1988; ROBERTS et al., 1999).

Estudos importantes foram desenvolvidos no meio científico no decorrer dos anos, como os dos autores Wojtaszewski e colaboradores (1999; 2000), que evidenciaram o efeito do exercício físico na captação da glicose em animais com deleção do IR, submetidos ao exercício de corrida em esteira aumentaram a captação da glicose após o exercício físico. Estes resultados corroboram com aqueles descritos por Luciano e colaboradores (2002) que, por sua vez, mostraram maior captação de glicose em ratos magros submetidos uma sessão de exercício físico de natação. Efeito decorrente da maior fosforilação do IRS-1 em tirosina, conseqüentemente, aumento da atividade da PI3-K e Akt, resultando na maior captação de glicose, sem diferença na fosforilação do IR.

Os resultados evidenciados pelos diversos estudos demonstram que o exercício físico é uma ferramenta na melhora da sinalização da insulina, podendo atuar por mecanismos intracelulares diferentes. Entretanto, precisa de mais investigações para elucidar a ação do exercício físico na captação de glicose uma vez que a duração dos efeitos na sinalização da insulina é variável, bem como sua magnitude, dependendo de variáveis como duração, intensidade e tipo de exercício.

### **3.4 Papel do Exercício Físico Aeróbico no Metabolismo Lipídico**

Como descrito anteriormente, o exercício físico aeróbico regular é atuante sobre mecanismos que contribuem para a homeostasia da glicose. O músculo esquelético e o tecido adiposo apresentam diferentes participações com relação ao metabolismo de carboidratos (DE FRONZO, 2004). De acordo com Carnevali e colaboradores (2011), tratando-se de exercício aeróbio de longa duração (acima de 90 minutos) e intensidade igual ou inferior a 75% do  $\text{VO}_2\text{máx}$ , ocorre utilização principalmente do metabolismo oxidativo da glicose e dos ácidos graxos (AGs) para

se manter a demanda energética e a manutenção da glicemia, sendo que quanto maior a intensidade, maior é a utilização do sistema glicolítico.

Neste sentido, outros estudos são necessários para também elucidar os efeitos do exercício físico no metabolismo lipídico e, desta forma, poder auxiliar os profissionais de saúde na elaboração de programas de exercício físicos propostos ao controle lipídico sanguíneo e/ou diminuição da gordura corporal com o intuito de prevenir doenças e promover a saúde.

A primeira investigação acerca dos lipídios foi em 1887, feita pelo pesquisador Vogel que se dedicou à pesquisa do colesterol nas placas de ateroma. No século XX, na Alemanha, experimentos com ratos alimentados com dietas ricas em colesterol mostraram que estes desenvolviam hipercolesterolemia e lesões ateromatosas (BERTOLAMI; BERTOLAMI, 1986).

Lipídios são caracterizados como substâncias orgânicas, insolúveis em água, porém solúveis em solventes apolares, e possuem um papel fundamental em uma grande variedade de funções celulares. Constituem uma das mais importantes formas de armazenamento energético no organismo e também são constituintes das membranas celulares (LEHNINGER; NELSON; COX, 2007). Segundo Pereira (2008), através da dieta ou da síntese no próprio organismo, a partir dos glicídios são adquiridos os lipídios do nosso organismo. Os triglicerídeos (TG), os AGs e o colesterol (COL) são considerados, biologicamente, os mais relevantes (MOTTA, 2009; XAVIER et al., 2013).

Os TGs são formados por três moléculas de ácidos graxos e 1 uma molécula de glicerol (LIMA-SILVA et al., 2006), e estão depositados nos tecidos adiposo e muscular (XAVIER et al., 2013). Os ácidos graxos livres (AGLs) são, principalmente, utilizados em exercícios mais prolongados e sua liberação dependente da duração e intensidade do exercício, bem como do estado nutricional (MARTIN, 1996). Eles podem advir dos TGs armazenados no tecido adiposo, musculatura esquelética, e em menor quantidade, dos TGs ligados à VLDL (LIMA-SILVA et al., 2006). É importante ressaltar que durante o exercício físico moderado ocorre desvio do metabolismo energético na utilização da fonte de glicose e lipídios para predominância do uso de lipídios.

Classicamente, o principal reservatório de energia é o tecido adiposo branco (TAB) e tem como papel fisiológico manter o suprimento energético para outros tecidos. A lipogênese no período alimentado e a lipólise nos períodos de jejum, ou de

aumento da demanda energética, são cruciais para a manutenção do equilíbrio energético (LANGIN, 2006; NASCIMENTO et al., 2009).

O aumento da demanda energética é promovido por EFA regular de intensidade moderada (ARANTES et al., 2013), o que contribui no aumento da mobilização dos ácidos graxos do tecido adiposo por estimular a lipólise modulada por catecolaminas (adrenalina e noradrenalina) que exercem efeitos lipolíticos mais pronunciados em tecido adiposo abdominal (ARNER, et al., 1990). Tal fato contribui para menor acúmulo de gordura especialmente na região abdominal e redução do ganho de peso corporal (ISKEN et al., 2010), desencadeado pelo exercício.

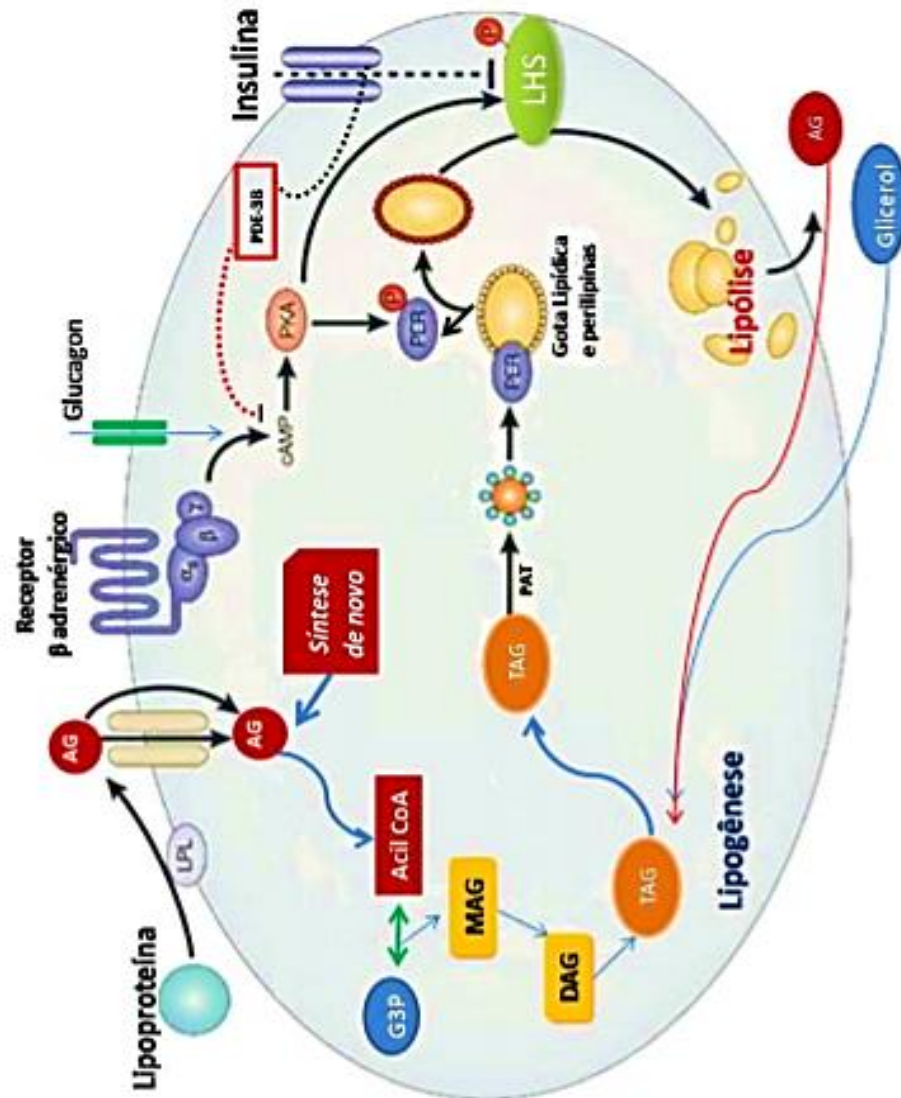
Quando se trata de uma sessão de exercício agudo, as concentrações de cortisol aumentam durante a sessão de treinamento e mantêm-se elevadas após o término, sendo a secreção do cortisol relacionada a uma resposta aguda. Ou seja, no exercício físico, esse hormônio estimula a produção de glicose pelo fígado ativando a gliconeogênese e diminui a sua utilização, acentuando a liberação de glucagon pelas ilhotas pancreáticas (KRAEMER et al., 1998).

Assim, no início do exercício, ocorre aumento na secreção e liberação dos principais estimulantes endógenos do processo lipolítico, as catecolaminas circulantes (adrenalina e noradrenalina), as quais se ligam aos receptores do tipo  $\beta$ 3-adrenérgicos na superfície da membrana dos adipócitos. Além destes hormônios, o hormônio tireóide estimulante (TSH), hormônio do crescimento (GH) e adrenocorticotropina (ACTH), parecem desencadear reações em cascatas, contudo as catecolaminas são principais ativadores da reação clássica de cascatas (FRANZ et al., 1983), e no término da reação, a enzima hormônio sensível-lipase (LHS) que é fosforilada, passa de inativa para forma ativa. Essa enzima, junto com a enzima monoacilglicerol lipase, é responsável pela degradação do TG em 3 de ácidos graxos e 1 molécula de glicerol. Os AGL não são transportados livremente pelo plasma e ligam-se à albumina, sendo transportados ao músculo esquelético e utilizados como fonte energética (Figura 2). Enquanto o glicerol, ao ser liberado, é transportado pela corrente sanguínea até o fígado para servir como intermediário na glicólise e ser utilizado na gliconeogênese (LIMA-SILVA et al., 2006).

Durante a realização de exercícios físicos, os AGs são importantes substratos para a produção de ATP. O aumento da capacidade de captar os AGs para célula muscular (IBRAHIMI et al, 1999) e transportá-los para a mitocôndria para serem oxidados (HELGE e KIENS, 1997), facilita o aumento da oxidação de AGs pelo

processo denominado  $\beta$ -oxidação. Em situações que requerem tanto poupar glicose quanto fornecer maior suprimento de energia, a oxidação de AGs na mitocôndria ( $\beta$ -oxidação) é essencial para a manutenção da homeostase energética (BONNEFONT et al., 2004), como por exemplo o exercício físico aeróbio. No entanto, a maior fração de AGs de cadeia longa fornecida aos tecidos-alvo, não podem atingir a matriz mitocondrial por difusão simples (BARLETT & EATON, 2004). Esse transporte é catalisado por um complexo enzimático denominado carnitina palmitoil transferase (CPT) que consiste da CPT I, CPT II e Carnitina acetil-transferase (BERTHON et al., 1998).

Figura 2 - Controle da lipólise e lipogênese



Fonte: Autor (2016) – Adaptado de BUZELLE, 2010. AGs são liberados das lipoproteínas (Quilomícrons e VLDL), catalisadas pela enzima lipase lipoproteica (LPL) entra no adipócito através de difusão passiva e transporte ativo. Primeiro, AGs intracelulares são convertidos para Acil-CoA pela Acil-CoA-Sintase (ACS), e é então utilizado como substrato por duas vias paralelas de síntese de Triacilglicerol (TAG) no retículo endoplasmático. A gordura armazenada está predominantemente na forma de TAG, em adipócito. A taxa relativa de lipogênese e lipólise é regulada por fatores endócrinos, por exemplo catecolaminas e insulina, que impõem o seu efeito pela fosforilação da Lipase perilipin (PER) e Lipase Hormônio-Sensível (HSL). A fosforilação de PER permite que a HSL acesse gotículas lipídicas, o que resulta na hidrólise do TAG para três moléculas AGs e uma de glicerol, que são então liberados dos adipócitos. Durante o exercício, sob estímulos dos hormônios lipolíticos, os adipócitos liberam AGs e glicerol no plasma, regulado pela ação da atividade da HSL. G3P, glicose-3-fosfato; MAG, monoacilglicerol; DAG, diacilglicerol; PAT, família de proteínas perilipin, adipofinila e TIP57 associadas à gota lipídica; PKA, a proteína cinase A; PDE-3B, AMP cíclico fosfodiesterase-3B.

De maneira geral, exercícios físicos anaeróbicos e aeróbicos podem promover importantes adaptações morfofuncionais e metabólicas no organismo (WILMORE; COSTILL, 2001).

Assim, evidencia-se que a regulação do metabolismo energético, para a produção de energia em resposta ao treinamento físico aeróbio, é fundamental para um bom desempenho durante a realização de exercícios físicos adequados, capazes de promover efeitos positivos aos praticantes.

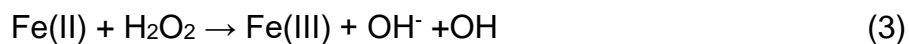
Realizado na duração e intensidade adequadas, o exercício físico aeróbico tem como fonte energética predominante o ácido graxo (LIMA-SILVA, 2006), com possível redução de adiposidade (XU et al., 2011) e menor peso corporal de indivíduos treinados comparados com indivíduos não treinados (HOWARD; FLIER, 2006). De fato, o exercício físico aeróbico é amplamente recomendado como uma estratégia não farmacológica para prevenção e tratamento da obesidade, e controle de peso corporal (HUNTER et al., 2010).

A prática de EFA de forma regular é uma medida não farmacológica efetiva na prevenção e tratamento de fatores de risco cardiovascular, como hipertensão arterial, obesidade, dislipidemia, resistência à insulina e estresse diário (VI Diretrizes Brasileiras de Hipertensão Arterial, 2010). Esta medida diminui a concentração plasmática de TG e lipoproteína de baixa densidade (LDL), aumentando-se a concentração de lipoproteína de alta densidade (HDL) (KRAUS et al., 2002), promovendo melhora no perfil lipídico sanguíneo. Além disso, os efeitos do exercício físico sobre o perfil lipídico são bem conhecidos. São apresentados por indivíduos ativos fisicamente quando comparados a indivíduos sedentários: maiores níveis de HDL e menores níveis de TG, LDL e VLDL. Melhoras essas, independentes de sexo, peso corporal e da adoção de dieta (CIOLAC; GUIMARÃES, 2004). Somando-se a isso, aumenta o número de receptores que captam o LDL do plasma, resultando em menor exposição aos danos oxidativos (NUNES et al., 2010).

### **3.5 Efeitos do Exercício Físico Aeróbico: papel da sinalização redox**

Sabe-se que a maioria do oxigênio molecular é utilizado para geração de energia via cadeia respiratória mitocondrial e produz ao final do processo adenosina trifosfato (ATP) e espécies químicas altamente reativas com biomoléculas que podem provocar danos ao metabolismo intracelular (COOPER et al., 2002). Dentre vários

intermediários estão as espécies reativas de oxigênio (EROs) como ânion superóxido ( $\cdot\text{O}_2^-$ ), radical hidroxila (OH), e peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ). Os dois primeiros são espécies radicalares, enquanto o último é espécie não-radicalar (VALKO et al., 2004). Logo abaixo está a reação de Haber-Weiss que demonstra a continuidade do processo de formação de EROs através do  $\cdot\text{O}_2^-$  :

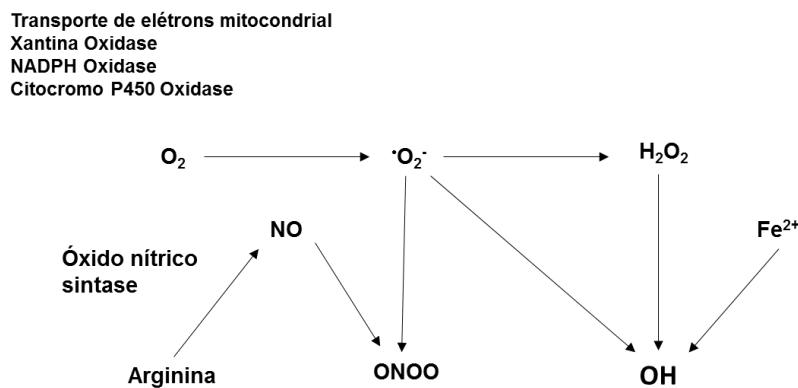


Na reação 1, quando apenas um elétron se adiciona à molécula de oxigênio, observa-se a produção de  $\cdot\text{O}_2^-$ . Assim, uma enzima do sistema de defesa antioxidante, a superóxido dismutase (SOD), possibilita que duas moléculas de  $\cdot\text{O}_2^-$  se dismutem para a formação da espécie não-radicalar peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), considerado um agente oxidante fraco, como ocorre na reação 2. Entretanto, na reação 3, sabe-se que  $\text{H}_2\text{O}_2$  tem a propriedade de atravessar membranas celulares e poder-se unir com um elétron proveniente de metais de transição,  $\text{Fe}^{2+}$  ou  $\text{Cu}^+$ , e este fator pode dar origem ao radical hidroxila (OH), que é uma das espécies radicalares mais reativas (JENKINS & GOLDFARB, 1993).

Outros tipos de moléculas reativas formadas em meio extra mitocondrial, são as ERNs. Estas moléculas são produzidas a partir da reação do óxido nítrico ( $\cdot\text{NO}$ ) com o oxigênio, formando ( $\text{NO}_2^-$ ), nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ), peroxinitrito ( $\text{ONOO}^-$ ) (VALKO et al., 2004; RUDOLPH, FREEMAN, 2009).

ERONs são produzidas continuamente durante processos metabólicos e apresentam importantes funções no organismo (SEBBEN et al., 2011). As principais EROs distribuem-se em grupos radicalares, como exemplo o (OH) e o  $\cdot\text{O}_2^-$ ; e grupos não-radicalares, como exemplo oxigênio molecular ( $\text{O}_2$ ) e  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Dentre as ERNs, tem o  $\cdot\text{NO}$ , nitrito ( $\text{NO}_2^-$ ), nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ), peroxinitrito ( $\text{ONOO}^-$ ) (VALKO et al., 2006; HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2007) (Figura 2).

**Figura 3 - Vias de formação de ERONs**



Fonte: Autor (2016) - Adaptado de ESSIG; NOSEK, 1997. O  $\cdot\text{O}_2^-$  pode ser formado de várias maneiras. 1) Na cadeia de transporte de elétrons (CTE) mitocondrial, principalmente quando esta se encontra reduzida e é “reperfundida” pelo oxigênio; 2) por enzimas como xantina oxidase (ativada na mesma situação descrita acima, onde predomina uma baixa concentração de ATP e alta concentração de AMP) e 3) pelas enzimas NADPH oxidase e citocromo P450 oxidase (SJÖDIN et al., 1990).  $\cdot\text{O}_2^-$ , radical ânion superóxido; OH, radical hidroxila;  $\text{H}_2\text{O}_2$ , peróxido de hidrogênio; NO, óxido nítrico; ONOO, ânion peroxinitrito.

Desde a década de 1950 é reconhecido que o músculo esquelético produz radicais livres (RL), termo que refere-se a átomo ou molécula altamente reativo, que contém número ímpar de elétrons em sua última camada eletrônica (HALLIWELL & GUTTERIDGE, 1990). Ao final da década de 1970, têm-se as primeiras demonstrações de que o exercício físico estava associado com o aumento na formação de RL e de ERONs (JACKSON; PYE; PALOMERO, 2007). Em 1978, publicou-se a primeira evidência de que o exercício aumenta a produção de ERONs em humanos (DILLARD et al., 1978). A fonte de produção de ERONs durante o exercício não foi revelada nessa investigação, mas no estudo subsequente realizado por Davies e colaboradores (1982) que demonstrou que o músculo em contração é proeminente fonte de ERONs. Além disso, Balon & Nadler (1994) observaram que o músculo em contração também produz  $\cdot\text{NO}$  e outras ERNs. Assim foi demonstrado que músculo esquelético gera RL em baixos níveis durante o repouso e em altos níveis durante a contração (FERREIRA; REID, 2008).

É conhecido como parte do metabolismo e sob condições fisiológicas normais, que a maioria das ERONs é produzida na cadeia respiratória mitocondrial, pela qual



de 90% a 95% do oxigênio consumido é reduzido à água (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2007). Enquanto isso, cerca de 5% do oxigênio consumido é reduzido a uma forma muito comum de radicais livres nos meios biológicos, o  $\cdot\text{O}_2^-$ , como é estabelecido na literatura. No exercício físico ocorre, em torno de 100 vezes, aumento nas fibras musculares ativas e 25 vezes o volume de oxigênio total consumido ( $\text{VO}_2$ ) (SJÖDIN et al., 1990). E de acordo com Jenkins & Goldfarb (1993), o  $\cdot\text{O}_2^-$  pode ser formado de diversas maneiras.

Em sistemas biológicos, as ERONs, despertaram grande interesse devido a sua importância nos eventos patológicos e fisiológicos.

### 3.5.1 Exercício Aeróbico: papel do eixo $\cdot\text{NO}$ /Arginase

Atualmente, a regulação dos níveis de ERONs é fundamental para o estabelecimento do equilíbrio redox. Apesar de dispor do sistema de defesa antioxidante dividido em enzimático e não enzimático, pesquisas mostram que há possibilidade de ocorrência de estresse oxidativo durante o exercício, pois o consumo de  $\text{O}_2$  aumenta significativamente, ocasionando maior formação de ERONs.

Evidências experimentais mostram que o  $\cdot\text{NO}$  também pode influenciar no equilíbrio oxidante/antioxidante (REID, 1998).

Em 1987, quando foi identificado como fator relaxante derivado do endotélio (EDRF - *Endothelium-Derived Relaxing Factor*), a importância do  $\cdot\text{NO}$  como agente sinalizador intracelular e extracelular foi relatada, sendo descrita a sua participação nos mecanismos responsáveis pela vasodilatação (FURCHGOTT; ZAWADZKI, 1980; FURCHGOTT, 1999). Nesse mesmo tempo, descobriu-se que o  $\cdot\text{NO}$ , pode ser uma substância potencialmente tóxica, assim como pode contribuir positivamente no metabolismo humano (ZILBERSTEIN; FLORA-FILHO, 2000), ou seja, pode ser tanto agente oxidante quanto redutor, dependendo do meio em que se encontra, e sua reação com o oxigênio gera  $\text{NO}_2^-$  e  $\text{NO}_3^-$ . O  $\cdot\text{NO}$  é uma molécula gasosa, inorgânica e de baixo período de meia vida, altamente reativa se combinando facilmente com o oxigênio e com alguns metais de transição; a sua alta reatividade é em função da presença de um elétron desemparelhado (radical livre) em sua última camada de valência (CERQUEIRA & YOSHIDA, 2002). A reação que produz  $\cdot\text{NO}$  é mediada pelas enzimas óxido nítrico sintase (NOS), a partir do substrato L-arginina (Figura 3).

A produção desta molécula, segundo Cerqueira & Yoshida (2002), é realizada por três isoformas das NOS que são hemoproteínas que possuem o mesmo mecanismo catalítico e utilizam os mesmos substratos, co-fatores e co-substratos. A isoforma 1, ou óxido nítrico sintase neuronal (nNOS), é constitutiva, é cálcio-calmodulina dependente e está presente principalmente em neurônios e no órgão sexual masculino. A isoforma 2 é induzida (iNOS), não é cálcio-dependente e é regulada pelo estímulo imunológico, produzindo grandes quantidades de  $\cdot\text{NO}$  para a defesa contra patógenos. A isoforma 3, ou óxido nítrico sintase endotelial (eNOS), é constitutiva, produz  $\cdot\text{NO}$  continuamente no endotélio em condições basais. Também é cálcio-calmodulina dependente. O maior atrito nas paredes dos vasos sanguíneos, ou seja, tensão de cisalhamento (ou *shear stress*) pelo aumento do fluxo sanguíneo, faz com que a eNOS aumente a produção de  $\cdot\text{NO}$  (ANDREW; MAYER, 1999; LUIKING; ENGELEN; DEUTZ, 2010).

**Figura 3 - Reação catalisada pela NOS**



Fonte: Autor, 2016.

Nota: A reação que produz  $\cdot\text{NO}$  é mediada pelas enzimas óxido nítrico sintase (NOS), a partir do substrato L-arginina.

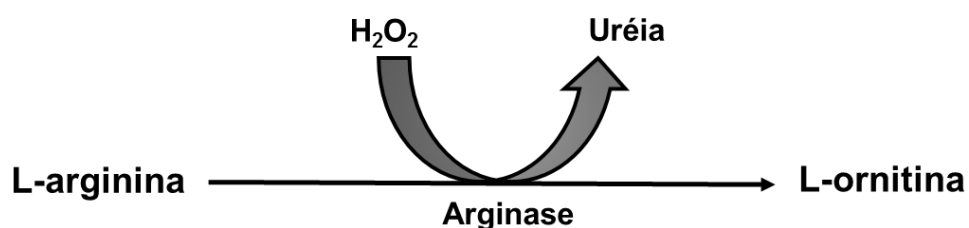
Evidências experimentais mostram que o  $\cdot\text{NO}$  também pode influenciar no equilíbrio oxidante/antioxidante intramuscular (REID, 1998; REID; DURHAM, 2002). Sabe-se que o  $\cdot\text{NO}$  desempenha uma função de grande importância na regulação do tônus muscular por ser um importante vasodilatador (MAEDA et al., 2004). Entretanto, o substrato L-arginina é via comum também para outra enzima, neste caso a arginase, encontrada também em outros tecidos (endotélio e células musculares lisas vasculares) (DEMOUGEOT et al., 2007; DURANTE et al., 2007; RABELO et al., 2015). No músculo esquelético ocorre produção de  $\cdot\text{NO}$  a partir da L-arginina, pela reação da enzima NOS, que pode reagir com  $\cdot\text{O}_2^-$ , formando  $\text{ONOO}^-$ , um intermediário instável, altamente reativo (REID, 1998).

A grande expansão nas investigações acerca do  $\cdot\text{NO}$ , importante vasodilatador, deve-se ao papel central deste gás em processos fisiológicos, inclusive no tecido muscular, como a regulação do fluxo sanguíneo, a angiogênese, a regulação metabólica, expressão gênica e modulação no processo de contração muscular (BREDT, 1999; REID, 2001). Neste sentido, a produção desta molécula, além de depender da presença das isoformas constitutivas da NOS (cNOS, eNOS-endotelial e nNOS-neuronal), também pode ser influenciada pela concentração do seu principal substrato, a L-arginina.

Uma vez que se sabe da competição entre NOS e arginase pelo mesmo substrato L-arginina, existe a possibilidade de maior atividade de uma enzima comparada à outra, podendo ocasionar ação antioxidante ou pró-oxidante, o que aumenta o interesse em compreender o importante papel fisiológico deste eixo em resposta ao exercício físico. No intuito de esclarecer o mecanismo de competição entre a arginase e a NOS, este estudo tem por objetivo quantificar indiretamente a produção de  $\cdot\text{NO}$ , bem como avaliar a atividade da arginase.

Arginase é uma enzima central que participa do ciclo da uréia. Está envolvida em um conjunto de reações que, a partir da hidrólise de L-arginina, resulta na síntese da uréia e L-ornitina (ASH, 2004). (Figura 4).

**Figura 4 - Síntese de uréia**



Fonte: Autor, 2016.

Nota: A L-arginina é um aminoácido que sofre hidrólise pela ação da enzima arginase, formando L-ornitina e uréia. Autor, 2016.

As isoformas de arginase têm distribuição tecidual e compartimentalização celular diferentes. São duas isoformas designadas como Arginase I (AI) e Arginase II (AII). AI é a isoforma que se encontra principalmente no citosol das células hepáticas (RYOO; LEMMON; SOUCY, 2006; DURANTE, 2013), porém em células endoteliais e

células do músculo liso vascular também está descrita, também como enzima citosólica (JENKINSON; GRODY; CEDERBAUM, 1996). Enquanto a AII esta localizada, principalmente, em tecidos extra-hepáticos, sendo uma enzima mitocondrial distribuída em vários tecidos e órgãos, como rim e próstata (MORRIS et al., 1997) e vasos sanguíneos (RYOO, 2008; RABELO et al., 2015).

De acordo com Bansal e Ochoa (2003), a enzima arginase está envolvida em processos endógenos como regulação metabólica do seu substrato, o aminoácido L-arginina, e outras moléculas, como o aminoácido L-ornitina. Vale salientar que existem mecanismos pelos quais as isoformas da arginase e da NOS interferem na ação uma da outra. Por exemplo, a partir de um produto da ação da arginase, as poliaminas são formadas e podem atuar como reguladores fisiológicos da produção de  $\text{NO}$  (CHATURVEDI et al., 2010; CODOÑER-FRANCH et al., 2011). Além disso, um intermediário endógeno formado na síntese de  $\text{NO}$ , o N $\omega$ -hidroxi-L-arginina, é um potente inibidor da arginase (COSTANZO et al., 2010). Diante dessas observações, sabe-se da competição existente entre as isoformas da arginase e da NOS pelo mesmo substrato, sendo assim um dos principais mecanismos moduladores dos efeitos exercidos pelos produtos da atividade de ambas as enzimas (BOUCHER; MOALI; TENU, 1999).

Uma ferramenta de grande relevância para vários processos fisiológicos mediados pela síntese de  $\text{NO}$  é o equilíbrio entre a sua produção, através das enzimas NOS e a atividade da arginase que tem apenas L-arginina como substrato, e seu acionamento em grande proporção pode implicar em resultados prejudiciais, uma vez que os benefícios do  $\text{NO}$  podem ser anulados, sobretudo no sistema cardiovascular (DURANTE; JOHNSON; JOHNSON, 2007), pois o decréscimo da biodisponibilidade desta molécula, desempenha importante papel na patogênese de agravos cardiovasculares (VAISMAN, ANDREWS, KHONG, 2012).

Desta forma, buscam-se alternativas para amenizar os efeitos prejudiciais do desequilíbrio redox/estresse oxidativo, melhorando a capacidade antioxidante do organismo. Nesse sentido, o exercício físico também pode ser uma alternativa na prevenção e/ou no tratamento das doenças e de suas complicações. De Oliveira e colaboradores (2012), expõem que o estresse oxidativo induzido pelo exercício pode funcionar em uma forma semelhante aos princípios gerais do treinamento físico. Isto é, para que ocorra uma adaptação, o estímulo fisiológico aplicado (neste caso, a produção de ERONs) deve exceder um determinado limiar mínimo, sobrecarregando

efetivamente o sistema. Se a sobrecarga é conseguida, a capacidade fisiológica do corpo irá expandir ou adaptar, levando a melhorias na saúde e/ou o desempenho humano (FISHER-WELLMAN; BLOOMER, 2009).

Sabe-se que em relação ao exercício físico a produção de ERONs é conhecida por ser em função tanto da intensidade (GOTO et al., 2003) e duração (BLOOMER et al., 2007) do exercício, e a produção elevada de pró-oxidantes que excede o nível considerável, por sua vez, pode reduzir as defesas antioxidantes. Desta forma, os danos oxidativos irreparáveis podem ocorrer, resultando em saúde e/ou doença (FISHER-WELLMANN; BLOOMER, 2009). Neste contexto, mais pesquisas são necessárias antes que as conclusões definitivas sejam estabelecidas.

Apesar de muitos dados serem apresentados em relação a investigações com seres humanos, há um grande corpo de pesquisa que evidencia o estresse oxidativo induzido pelo exercício em modelos animais. É importante ressaltar a consistência nos resultados de trabalhos com animais, provavelmente, devido ao grande grau de controle que podem ser executadas nestes modelos e à sua homogeneidade. A maioria dos investigadores relata que em vários tecidos ocorrem aumentos em vários biomarcadores de estresse oxidativo, em protocolos de exercícios aeróbico (MILLS et al., 1994; GOLFARB; BLOOMER; McKENZIE, 2005). A maior viabilidade na medição de biomarcadores de estresse oxidativo e, no controle da natureza no modelo animal, possibilita diminuir a escassez de estudos que exploram tecidos biológicos como, por exemplo, músculo esquelético, coração, cérebro, sangue dentre outros mais.

Em nosso estudo, destaca-se o exercício físico aeróbico, especificamente a natação, que possibilita adaptações fisiológicas, como a produção de  $\cdot\text{NO}$  durante sua realização. Assim, pesquisas recentes apontam o exercício físico como estimulador da produção de  $\cdot\text{NO}$ , especificamente em níveis saudáveis para o organismo humano (De OLIVEIRA et al., 2012; HIRAI et al., 2012; DIAZ et al., 2013).

Diante das premissas, é fácil entender o porquê de investigar o eixo  $\cdot\text{NO}$ /arginase, agora reconhecida como uma via reguladora fundamental do sistema vascular, sendo grande a atenção como possíveis alvos terapêuticos para o tratamento de várias condições patológicas, principalmente, para as doenças cardiovasculares. Neste cenário, tais questões supracitadas é o que também motiva esta pesquisa, a relação  $\cdot\text{NO}$ /arginase e o papel do exercício físico.

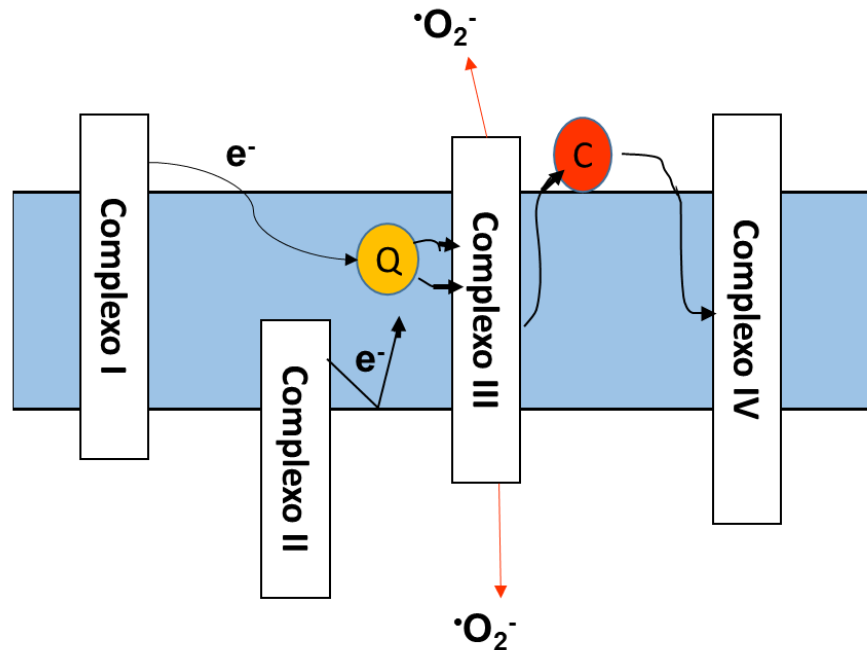
### 3.5.2 Mecanismos de formação de ERONs

Desde as observações iniciais citadas anteriormente, confirmaram-se que a própria contração muscular causa a produção de ERONs em fibras musculares (POWERS & JACKSON, 2008; SAKELLARIOU et al., 2012; GOMES et al., 2012), que são importantes para adaptação ao treinamento físico (MASON; WALEY, 2014). Por isso, a formação de ERONs proveniente do exercício ocorre, devido à ativação da via da xantina oxidase; ao estresse dos eventos cíclicos de contração, assim como ao aumento da necessidade de consumo de oxigênio pelo músculo (SCHNEIDER & OLIVEIRA, 2004).

De acordo com Jenkins, Goldfarb (1993), o  $\cdot\text{O}_2^-$  pode ser formado de diversas maneiras, como é explicado na sequência.

Na Cadeia de transporte de elétrons (CTE), cerca de 5% do  $\text{O}_2$  consumido geram  $\cdot\text{O}_2^-$ , dessa forma, uma das principais formas de produção de EROs durante o exercício é devido a um vazamento de elétrons na cadeia respiratória mitocondrial que ocorre entre os complexos I (NADPH-ubiquinona oxidoreductase) e complexo III (citocromo C redutase). Estes parecem ser os responsáveis pela maior parte da geração de  $\cdot\text{O}_2^-$  (CADENAS; DAVIES 2000) (Figura 3).

**Figura 6 - Produção de Espécies Reativas de Oxigênio através da Cadeia Transportadora de Elétrons**



Fonte: Autor (2016) - Adaptado de BAYIR; KAGAN, 2008. Na mitocôndria, uma das formas de produção de EROs decorre de um escape de elétrons na cadeia de transporte de elétrons (CTE). Ocorrem quatro etapas de redução no interior do complexo IV mitocondrial, liberando  $H_2O$  como produto final da reação (JENKINS; GOLDFARB, 1993). O escape de elétrons entre o complexo I e ubiquinona e entre ubiquinona e o complexo III parecem ser os responsáveis pela maior parte dos superóxidos ( $\cdot O_2^-$ ) gerados (CADENAS; DAVIES 2000). Estima-se que de 2-4% do oxigênio consumido por seres humanos seja reduzido a  $\cdot O_2^-$  por mitocôndrias (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2007).

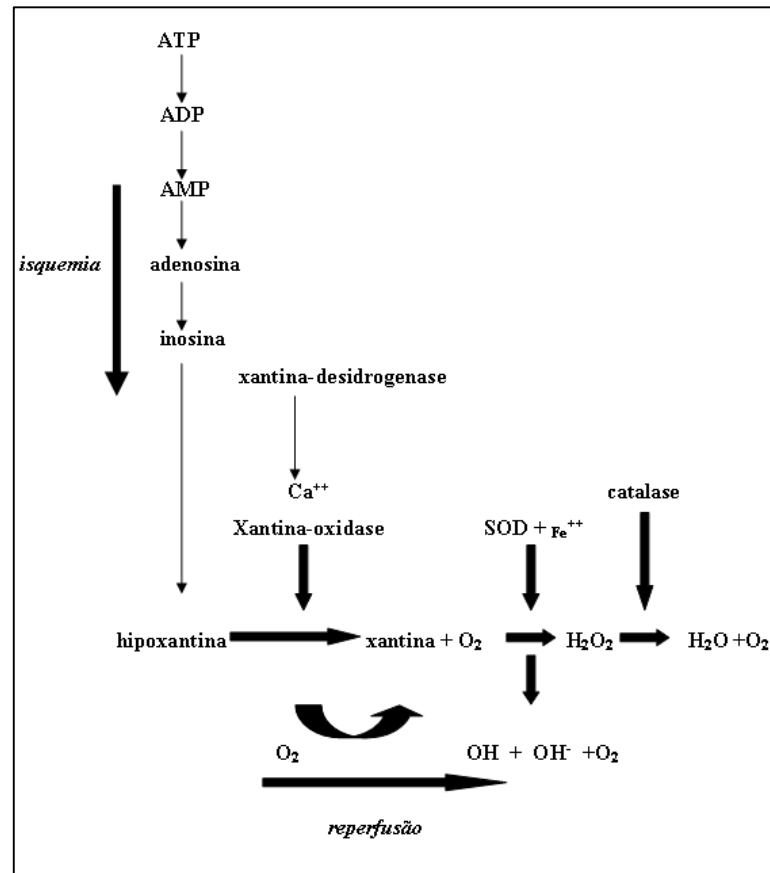
Argumenta-se que durante exercícios exaustivos a enzima xantina oxidase (XO) pode desempenhar um papel mais importante na produção de EROs do que a CTE (VINA et al., 2000; SACHDEV; DAVIES, 2007). No entanto, é mais provável que ambos contribuam, dependendo do tipo, intensidade e duração do exercício. Nesse sentido, a ativação da enzima XO pode causar a produção de EROs durante o exercício, em particular no exercício exaustivo. Isto é explicado em reações na qual o monofosfato de adenosina (AMP), formado do trifosfato de adenosina (ATP) pela reação de adenilato quinase, é degradado para hipoxantina. (MCARDLE et al., 2001). A XO é convertida e reduzida para xantina desidrogenase durante a isquemia por proteases intramusculares, as quais necessitam de  $Ca^{+2}$ . A XO converte a hipoxantina para xantina e ácido úrico usando o oxigênio molecular como receptor de elétrons,

sobretudo em situações de isquemia/reperfusão, gerando-se assim o  $\cdot\text{O}_2^-$  (SJÖDIN; WESLING; APPLE, 1990; MATSUO e KANEKO, 2001) (Figura 4).

O fluxo sanguíneo é restrito em diversos tecidos e órgãos, durante o exercício, a fim de aumentar o aporte para os músculos ativos. Dessa forma, as regiões privadas, temporariamente, do fluxo entram num estado de hipóxia, maior quanto mais intenso o exercício e quando se supera a capacidade aeróbia máxima ( $\text{VO}_2\text{max}$ ). Até mesmo o próprio músculo ativo entra em estado de hipóxia por insuficiência do aporte energético. Ao final da atividade intensa, todas as áreas afetadas são reoxigenadas, compreendendo o fenômeno de isquemia-reperfusão, com a conhecida produção de EROs (PARKER, 1997; RAMEL et al., 2004).



**Figura 7 - Mecanismo de produção de radicais livres pela ação da xantina oxidase**



Fonte: MIRANDA et al. (2004). Várias enzimas catalisam a redução de O<sub>2</sub> por um elétron. Uma flavoprotéina, xantina oxidase (XO), catalisa a conversão de hipoxantina em xantina. No mecanismo desta reação forma-se radical ânion superóxido (<sup>-</sup>O<sub>2</sub>), e este participa como intermediário nas reações que formam o peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). ATP, adenosina trifosfato; ADP, adenosina difosfato; AMP, adenosina monofosfato; Ca<sup>++</sup>, cálcio; O<sub>2</sub>, oxigênio molecular; SOD, superóxido dismutase; H<sub>2</sub>O, água; OH, radical hidroxila.

ERONs são produzidas normalmente pelo metabolismo celular e sugere duplo papel desempenhado no organismo, sendo prejudiciais em algumas ocasiões e benéficas em outras. Essas espécies auxiliam na defesa do organismo contra agentes infecciosos e envolvidas em sistemas de sinalização celular, estando em baixas e moderadas concentrações. Em níveis elevados, estas produzem dano celular conhecido como estresse oxidativo (VALKO et al., 2007), definido como resultado de mudanças no estado redox com predomínio dos sistemas orgânicos pró-oxidantes sobre os antioxidantes (ORTUÑO-SAHAGÚN, PALLÀS & ROJAS-MAYORQUÍN, 2014).

Estresse oxidativo é um assunto amplamente difundido na atualidade, uma vez que está intimamente ligado à ocorrência de algumas doenças, tais como aterosclerose, câncer, e também ao processo de envelhecimento (PISOSCHI & POP, 2015), devido à elevada produção de EROs que supera a capacidade antioxidante intracelular de eliminá-las (FINAUD, LAC & FILAIRE, 2006). Entretanto, na tentativa de diminuir e/ou atenuar possíveis danos, nosso organismo possui um complexo e bastante eficiente sistema de defesa antioxidante. Esse sistema é composto de elementos enzimáticos, como a catalase, a SOD e a glutathione peroxidase (GPx); além de elementos não-enzimáticos como o ácido ascórbico (vitamina C),  $\alpha$ -tocoferol (vitamina E), o selênio, a glutathione, a ubiquinona e os flavonoides, sendo a maioria destes compostos não enzimáticos fornecidos ao organismo humano, através da alimentação (URSO & CLARKSON, 2003; TSAKIRIS et al., 2006; DERESZ et al., 2007).

Vale salientar que no esforço intenso é observada a formação de ERONs, entre outras espécies reativas. Na realização de exercícios físicos extenuantes e/ou de longa duração, ocorre um aumento na produção de ERONs,  $\cdot\text{O}_2^-$ ,  $\text{OH}\cdot$  (o mais potente dos oxidantes) e  $\text{H}_2\text{O}_2$ , que não atua como radical mas como um agente oxidante gerando o  $\text{OH}\cdot$  (JI et al., 2004; WILLIAMS et al., 2006; NEUBAUER et al., 2010;). Conforme Jenkins e Goldfarb (1993), 2 a 5% do  $\text{O}_2$  consumido dão origem a ERONs, as quais apresentam grande capacidade reativa, podendo contribuir para o desequilíbrio intracelular, devido à capacidade de peroxidação lipídica, carbonilação proteica, causar dano ao DNA, bem como levar a morte celular (JENKINS; GOLDFARB, 1993; JI et al., 2004; WILLIAMS et al., 2006; NEUBAUER et al., 2010).

### **3.6 Modelos Experimentais de Treinamento Físico**

O embasamento científico é escasso para justificar a utilização de modelos de treinamento, provavelmente pela inviabilidade de implementação de novos métodos e/ou protocolos, assim como, a inexistência de modelos humanos absolutamente bem controlados (ARAÚJO et al., 2010). No entanto, existe uma vasta literatura “sugerindo” várias maneiras de treinamento. Desse modo, modelos animais são importantes para estudar processos patofisiológicos de doenças assim como compreender mecanismos fisiológicos dos sistemas (HÜNNING, 2014).

Apesar de relevante à evolução da fisiologia do exercício, o estudo de mecanismos fisiológicos depende de técnicas invasivas e a avaliação dos efeitos do treinamento físico nem sempre são possíveis de serem realizados em humanos. Diante desta dificuldade, tem-se como opção a utilização do modelo animal para o treinamento e o estudo das adaptações que ocorrem em resposta ao treinamento, apesar de possíveis limitações.

Considerando-se relevante a necessidade de estudos para investigar os efeitos do exercício físico, a utilização de modelos experimentais animais para verificar os efeitos do exercício físico, agudo ou crônico tem sido uma opção para a investigação de diversas questões, pois é ferramenta importante na manipulação de variáveis como duração, frequência, intensidade e tipo de treinamento, o que possibilita melhor controle das respostas fisiológicas geradas pelo treinamento físico (GOBATTO et al., 2001; VOLTARELLI et al., 2002; MANCHADO et al., 2005).

Tratando de treinamento físico aeróbico, este, quando aplicado experimentalmente, pode variar quanto à intensidade, duração, frequência semanal e o tempo de treinamento. Diferentes protocolos de treinamento físico foram testados em modelos animais de pequeno porte como camundongos que são também muito utilizados em estudos, devido a seu curto ciclo de vida, curto período de reprodução, o tamanho pequeno do animal, fácil manipulação, baixo custo de manutenção, além do baixo custo para à pesquisa (HÜNNING, 2014). No caso de camundongos, como principais protocolos têm-se as atividades voluntárias em rodas de correr (ALLEN et al., 1985) e exercícios forçados como esteira (PLOUGHMAN & GRANTER-BUTTON et al., 2005; FERREIRA et al., 2007) e natação (OSTMAN & NYBACK, 1976; KAPLAN et al., 1994; MEDEIROS et al., 2004).

Frequentemente utilizada, a natação, apesar das críticas por parte de alguns autores no que concerne à temperatura da água e estresse forçado, apresenta vantagens como baixos custos em comparação à esteira rolante e é considerada uma habilidade inata destes animais (ARAUJO, PAPOTI et al., 2007). Estudos realizados com esse modelo revelam coerência de adaptações ao treinamento físico semelhante às observadas em humanos e ratos treinados em esteira rolante (VOLTARELLI, GOBATTO et al., 2002; DE ARAUJO, PAPOTI et al., 2007; De ARAÚJO et al., 2012; DAVIES et al., 2013).

Dentre vantagens e desvantagens dos diferentes tipos de exercício, a natação é amplamente escolhida, além do seu devido baixo custo, merece destaque também

o alto desempenho dos animais submetidos à natação, uma vez que os camundongos e ratos são nadadores inatos, o que evita a necessária seleção de animais. No que tange a comparação entre corrida e natação, de acordo com a *American Physiological Society*, esta última é considerada fisicamente menos traumática para os animais, uma vez que não há lesões nas patas e/ou choques elétricos (KREGEL et al., 2006).

Embora não sejam muitas vezes consideradas na realização do exercício, características como adaptação, tipo de exercício, intensidade, frequência e duração entre outros devem ser escolhidos, cautelosamente, a fim de obter adaptações fisiológicas benéficas, contrárias aos efeitos negativos advindos de respostas do estresse crônico (KREGEL et al., 2006).

Dentre as diferentes formas de aplicação de treinamento físico em animais, o exercício de característica aeróbia tem gerado grande interesse por vários pesquisadores.

Sendo assim, Evangelista, Brum & Krieger (2003) estudaram as inter-relações entre intensidade, frequência e duração do treinamento físico com natação, visando à caracterização de um protocolo de treinamento físico com natação para camundongos para promoção de ajustes aeróbios e desenvolvimento de hipertrofia cardíaca excêntrica, também denominada fisiológica, nesta espécie animal de linhagem C57BL/6. Considerando aspectos relevantes como a fisiologia da espécie e teorias do treinamento físico no seu estudo, atualmente estas informações têm aplicabilidade em estudos de mecanismos envolvidos na gênese da hipertrofia cardíaca fisiológica e ajustes cardiovasculares em resposta ao treinamento físico.

Como é visto na literatura científica, os protocolos de natação previamente desenvolvidos pelos autores supracitados são muito utilizados para obtenção das adaptações resultantes do treinamento físico.

Somando-se às características peculiares de cada estudo e, aplicando-se o protocolo de forma adequada para os objetivos do estudo, desenvolveu-se muitos trabalhos, os quais investigaram: a atividade vagal cardíaca e a indução de hipertrofia cardíaca com o treinamento físico em natação (MEDEIROS, et al., 2004); a influência no aumento da dose do gene da enzima conversora da angiotensina (ECA) sobre a magnitude da hipertrofia cardíaca induzida pelo exercício (EVANGELISTA & KRIEGER, 2006); a disfunção e insuficiência cardíaca (IC) em camundongos induzida por hiperatividade simpática e sua prevenção e tratamento, modelo genético de IC, sendo esse modelo experimental submetido ao protocolo de natação por 8 semanas

com uma sessão por dia/5 dias na semana (MEDEIROS, 2006; MEDEIROS et al., 2008); assim como, os efeitos do treinamento físico sobre alterações do metabolismo energético induzidas pelo diabetes em camundongos com 1 ou 3 cópias do gene da ECA (BERGAMO, 2012).

Desta forma, para determinação de um protocolo de treinamento físico aeróbico, o método utilizado para promoção de adaptações fisiológicas depende da quantidade de treinamento físico, a qual é determinada pelas variações de treino pelo meio da alteração da intensidade, do volume e frequência de treinamento físico (MELLEROWICS & MELLER, 1978), associada à qualidade do treinamento que é determinada pela especificidade do exercício físico (MATHEWS & FOX, 1976), a combinação adequada desses fatores com as características e exigências físicas da espécie é fundamental para a otimização das adaptações ao treinamento (EVANGELISTA, 2003). Ressalta-se que no presente estudo as variáveis alteradas foram frequência e duração do treinamento.

Estes modelos geralmente visam estimular respostas a um treinamento com predominância de metabolismo aeróbio, pois este é um tipo de exercício que está associado com benefícios à saúde em geral.

Somando-se às premissas supracitadas, modelos animais apresentam importância fundamental nestes estudos, pois podem ter as condições genéticas e ambientais controladas, contrariamente aos aspectos éticos relacionados às investigações com humanos diante da complexidade etiológica (TOYE et al., 2007).

Diante do exposto, os fatores mencionados corroboram na validação deste modelo animal para estudos dessa natureza, e, desta forma, o C57BL/6 foi utilizado no presente estudo.

## 4. MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1. Aspectos éticos

Durante todo o procedimento com os animais experimentos, obedeceu-se aos princípios éticos e legislação vigente. Todos os procedimentos foram conduzidos com rigor ético e de acordo com os princípios postulados pelo Conselho Nacional de Experimentação Animal (CONCEA) e foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Alagoas (número de protocolo 25/2014, ANEXO).

### 4.2. Grupo amostral

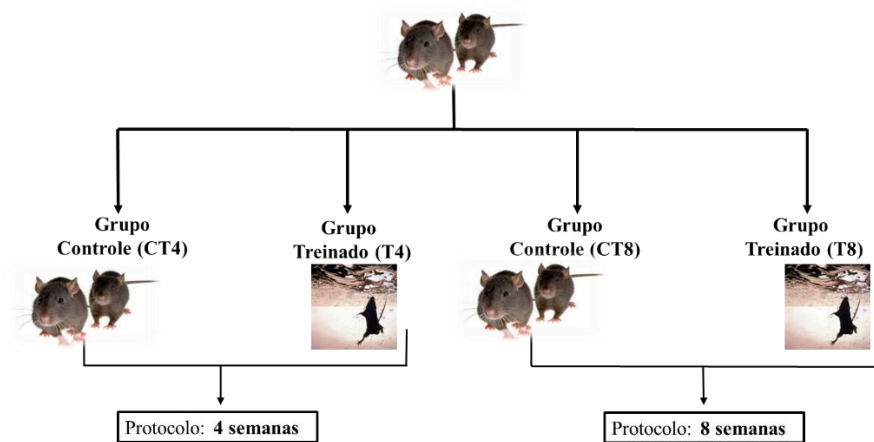
Utilizou-se camundongos machos C57Bl/6 (provenientes do Biotério Central da UFAL) com idade entre 12-16 semanas.

Os animais foram mantidos no Laboratório Experimental (LabExp) do Laboratório de Reatividade Cardiovascular (LRC/ICBS-UFAL), em condições padrão de experimentação animal, onde tiveram livre acesso a água e ração comercial da marca Nuvilab *ad libitum*, ambiente com ciclo de luminosidade de 12 horas (7:00 às 19:00 h), temperatura variando entre  $22^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$ , bem como exaustão de baixo ruído.

Para cada “set” experimental, os animais foram distribuídos em gaiolas coletivas, randomicamente divididos em quatro grupos experimentais, pareados por peso e idade: Controle (CT; n=4); treinado por 4 semanas (T4; n=6); controle (CT; n=4); treinado por 8 semanas (T8; n=6). Os animais foram identificados com marcação na orelha, sendo este procedimento simples e de rápida recuperação (Figura 8).

Os dois (2) grupos submetidos ao protocolo de natação, T4 e T8, respectivamente, treinaram durante quatro (4) semanas e oito (8) semanas.

**Figura 8 – Delineamento experimental**

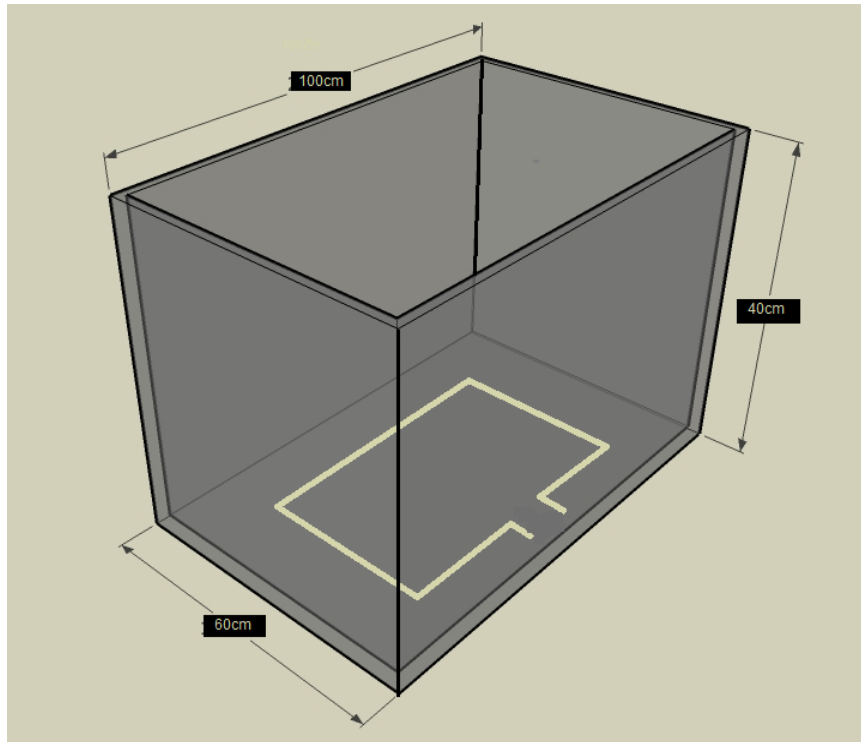


25

### 4.3. Sistema de natação para camundongos

Inicialmente, planejou-se a construção de um sistema de natação para implantação de um novo modelo experimental no LRC. Este envolvia o treinamento físico com natação em camundongos. Assim, a partir do que está proposto na literatura, o grupo optou por estudar 2 (dois) protocolos de treinamento de natação com o objetivo de fazer a padronização de um protocolo de treinamento físico aeróbico do LRC para futuras pesquisas, envolvendo o exercício físico como intervenção para elucidar mecanismos fisiológicos relacionados ao metabolismo lipídico, glicêmico e equilíbrio redox, visto que são as frentes de estudo do laboratório. Neste sentido, inicialmente, a ideia centrou-se em um protocolo de treinamento quando comparado com outro já padronizado e aplicado amplamente em diversos estudos, sobretudo na área de fisiologia do exercício. Neste sentido, procedeu-se com a adaptação do sistema de natação proposto por Evangelista e colaboradores (2003), de acordo com as limitações e condições do nosso grupo. Desta forma, a figura 9 mostra o projeto inicial do tanque de natação, feito em vidro, para início da construção do sistema de natação.

**Figura 9 - Desenho do tanque de vidro para construção do sistema de natação para camundongos proposto por LRC/UFAL (2016)**



No cenário exposto, o sistema de natação para camundongos utilizado no LRC foi construído com base no proposto por Evangelista e colaboradores (2003), necessário para viabilizar o treinamento físico de animais em nosso laboratório. Objetivou-se um instrumento de fácil manuseio, de baixo custo e que favorecesse tanto o melhor acompanhamento como visualização dos animais durante o treinamento. Nesse sentido, construiu-se uma piscina para murinos em vidro, em formato retangular, subdividida em 12 raias de acrílico opaco, com mangueiras conectadas a quatro (4) bombas para a saída de ar comprimido, e fixadas nas laterais das divisórias, tendo a fixação de pedras porosas em cada raia responsável pela promoção de borbulhas durante todo o período de treinamento, o que evitava a flutuação dos animais (Figura 10).

O aquecimento do sistema foi feito por resistência e controlada por termostato, dispostos, o primeiro na parte interna e o segundo na parte externa do tanque. O fundo da estrutura foi posicionado de modo a não ter contato com as divisórias, desta forma toda a água do sistema circulava livremente. A temperatura foi regulada para



permanecer entre 30 e 32°C durante todo o período de treinamento com monitoramento por meio de um termômetro (Marca JAD/ BOYU BT-05®), sendo a água trocada diariamente.

**Figura 10 - Visão superior do sistema de natação para camundongos, construído com adaptações realizadas pelo nosso grupo**



#### 4.4. Treinamento físico

O treinamento físico murino foi realizado por natação. Entretanto, realizou-se dois diferentes protocolos, um com duração total de 4 semanas adaptado de com o protocolo de Evangelista e colaboradores (2003) e um outro protocolo adaptado pelo LRC com duração total de 8 semanas de treinamento. O horário do treinamento foi 11:30h - 13:00 h e 17:00h - 18:30h, sendo no período da tarde o horário de treinamento do grupo que se exercitava um vez por dia, enquanto o grupo treinado duas vez por dia tinha o intervalo mínimo de 4 horas. Frisa-se que ambos os grupos treinados não utilizaram carga durante os treinamentos.

O protocolo utilizado foi caracterizado como treinamento de leve a moderada intensidade e de longa duração, sendo efetivo na promoção de adaptações cardiovasculares e no aumento da capacidade oxidativa muscular (MEDEIROS et al., 2004; FERNANDES et al., 2011), bem como a melhora na capacidade antioxidante

mostrado no estudo com humanos que realizaram 6 semanas de exercício físico monitorado e supervisionado (ELEUTÉRIO-SILVA et al., 2013). O treinamento foi realizado com o grupo T4 em uma frequência de cinco dias semanais sendo o grupo T4 submetido a duas (2) sessões diárias com duração de 90 minutos; e o grupo T8 submetido a uma (1) sessão diária com duração de 90 minutos (TABELA 1). Considerando-se a extensa variedade de fatores intervenientes na escolha do melhor tipo de exercício para a espécie animais de nosso estudo, de acordo com Kregel e colaboradores (2006), destaca-se a elevada sensibilidade desses roedores. Assim, são considerados os aspectos fisiológicos do animal, levando-os, por sua vez, à aplicação do exercício menos estressante possível e, além disso, sem sobrecarga de treino. Neste contexto, destaca-se nossa escolha do protocolo proposto com duração de 8 semanas e apenas 1 sessão diária de treino. É relevante informar que durante o treinamento com natação, estudou-se cuidadosamente as inter-relações entre frequência e duração do treinamento físico para promoção de ajustes metabólicos e oxidativos nesta espécie (EVANGELISTA; BRUM & KRIEGER, 2003).

**Tabela 1. Esquema das variáveis de treinamento de natação utilizado no presente estudo**

<b>Protocolo</b>	<b>Grupo</b>	<b>N</b>	<b>Volume (min)</b>	<b>Intensidade (%PC)</b>	<b>Frequência (sessões/dia)</b>	<b>Duração (semanas)</b>
1	T4	6	90	0	2	4
2	T8	6	90	0	1	8

N = Número de animais; Volume = duração de cada sessão de treinamento em minutos; PC = Peso corporal.

De acordo com o protocolo de treinamento físico, ambos os grupos treinados passaram por adaptação ao meio líquido que ocorreu no próprio tanque utilizado para o treinamento de natação com o propósito de reduzir o estresse do animal sem, entretanto, promover adaptações fisiológicas decorrentes do treinamento físico. Nesta adaptação, o tempo das sessões foi iniciado com a duração de vinte (20) minutos, aumentando diariamente dez (10) minutos até atingir-se aquele estipulado no protocolo (QUADRO 1). Apesar de não serem submetidos ao protocolo de treinamento, os camundongos dos grupos controles (CT4 e CT8) também foram submetidos à adaptação ao meio líquido a fim de mimetizar as condições adaptativas

aquáticas. Para esta adaptação, realizou-se em duas sessões por semana com duração de 5 minutos (EVANGELISTA et al., 2003; KREGEL et al., 2006).

**Tabela 2- Esquema demonstrativo do protocolo de treinamento físico utilizado**

	Semana1	Semana2	Semana3	Semana4	Semana5	Semana6	Semana7	Semana8
<b>Segunda</b>	20	70	90	90	90	90	90	90
<b>Terça</b>	30	80	90	90	90	90	90	90
<b>Quarta</b>	D	D	D	D	D	D	D	D
<b>Quinta</b>	40	90	90	90	90	90	90	90
<b>Sexta</b>	50	90	90	90	90	90	90	90
<b>Sábado</b>	60	90	90	90	90	90	90	90
<b>Domingo</b>	D	D	D	D	D	D	D	D

Os números representam o tempo em minutos de duração da sessão de treinamento; D= Descanso.  
Fonte: Autor, 2015.

#### 4.5. Peso corporal

Avaliou-se o peso corporal dos animais em balança semi-analítica (0,001 g; Shimatzu®).

#### 4.6. Avaliações glicêmicas

Os níveis de glicose foram determinados pela leitura no aparelho Accu-check® (Modelo Performa, Roche®). Para tanto, os animais foram mantidos em jejum noturno de 12 horas no dia antecedente ao sacrifício. Em seguida, os animais foram submetidos à coleta de sangue a partir da veia caudal, após um pequeno corte na ponta da cauda do animal. Com os dados dos níveis de glicose e triglicerídeos,

utilizou-se do índice TyG, uma medida simples que reflete a sensibilidade à insulina. O índice TyG foi calculado conforme a fórmula:

$$[\text{Ln TG (mg/dl)} \times \text{glicemia de jejum (mg.dL}^{-1}\text{)}] / 2$$

#### **4.7. Sacrifício dos animais**

Ao término do período experimental, os animais foram submetidos a um jejum de 12 horas e previamente pesados para determinação da dose de anestésico. Às 9hs da manhã, os animais foram anestesiados com cetamina e xilazina com dose de 110/10 mg/kg; i.p, respectivamente. Mediu-se a circunferência abdominal e o comprimento céfalo-anal (NOVELLI et al., 2006). Em seguida, através de uma pequena incisão logo abaixo do apêndice xifoide, realizou-se a punção cardíaca para a remoção de ~1,0 mL de sangue com seringa previamente heparinizada. O sangue coletado foi imediatamente armazenado em gelo comum e, na sequência, a uma temperatura ~4 °C, centrifugou-se a 4000rpm, por 10 minutos. Em seguida, separou-se as amostras de plasma para posterior análises. Seguindo-se a punção, realizou-se perfusão com solução heparinizada através do ventrículo esquerdo com ~2 vezes a volemia do animal. Sequencialmente, a cavidade torácica e abdominal foi aberta para a remoção dos tecidos. O coração foi retirado através da saída da aorta. O fígado foi removido através de corte dos ligamentos e do hilo hepático, suspendendo o mesmo para evitar lesões mecânicas no tecido. Os músculos gastrocnêmios (direito e esquerdo) nas suas porções medial e lateral foram retirados, posteriormente a esse procedimento, a tíbia esquerda foi dissecada e a perna do animal foi cortada acima do joelho, com o objetivo de preservar seu comprimento para posterior mensuração. Além dos órgãos supracitados, retirou-se para determinação do peso relativo tecidual, o tecido adiposo epididimal e perirenal, tecido adiposo marrom, rins, baço e músculo sóleo. Depois de retirados e pesados, os tecidos foram armazenados em biofreezer, a -80°C, para análises posteriores.

#### 4.8. Peso relativo de órgãos e da gordura visceral

Os órgãos fígado, coração, tecido adiposo epididimal e perirenal, tecido adiposo marrom, rins, baço, músculo gastrocnêmio e sóleo de todos os animais foram retirados, imersos em solução salina, colocados em papel filtro e pesados em balança semi-analítica (0,001 g; Shimatzu®). Os valores foram normalizados pelo peso corporal do animal correspondente e os resultados demonstrados em percentual (%), sendo calculados conforme a equação:

$$PR \text{ (peso relativo)} = (\text{Peso úmido do órgão(g)}/\text{Peso corporal final(g)}) \times 100$$

#### 4.9. Perfil lipídico plasmático

##### 4.9.1. Determinação dos níveis de colesterol total

Os níveis de colesterol foram mensurados de acordo com o método da colesterol oxidase (Allain et al., 1974), utilizando-se *kits* comerciais (Labtest®). Para tanto, 100µL da amostra, previamente diluída, assim como dos pontos da curva padrão de colesterol (variação entre 1,0 mg.dL<sup>-1</sup> e 10,0 mg.dL<sup>-1</sup>), foram pipetados em microplaca e seguidos da aplicação de 100µL do reagente cromógeno. Após a homogeneização e incubação, a 37°C, durante 20 minutos, a absorbância foi determinada através de leitor de microplaca, a 492nm (Leitora para microplacas Thermo Fischer Scientific®, Vantaa, Finlândia).

##### 4.9.2. Mensuração dos níveis de triglicerídeos e VLDL

A dosagem dos níveis plasmáticos de triglicerídeos foi realizada por *kit* comercial (Labtest®). O procedimento foi realizado seguindo-se as condições especificadas pelo fabricante, com protocolo adaptado para microplaca. Em resumo, 100µL do reagente cromógeno foram adicionados a 100µL da amostra previamente diluída em cada poço, bem como sobre os pontos da curva padrão de triglicerídeos (variação entre 1,0 mg.dL<sup>-1</sup> e 10,0 mg.dL<sup>-1</sup>). Após a homogeneização e incubação, a 37°C, durante 10 minutos, a absorbância foi determinada através de leitor de microplaca, a 492nm (Leitora para microplacas Thermo Fischer Scientific®, Vantaa,

Finlândia). Utilizando as equações de Friedewald (FRIEDEWALD et al., 1972), estimou-se as concentrações de VLDL conforme a equação:  $VLDL = TG/5$ .

#### **4.9.3. Dosagem de ácidos graxos não esterificados**

A dosagem de ácidos graxos não esterificados (AGNE) no plasma foi realizada utilizando-se um *kit* comercial (Wako Chemicals GmbH®, Neuss, Alemanha), segundo as instruções do fabricante, com adaptações para leitura em microplaca (Thermo Fischer Scientific®, Vantaa, Finlândia). Em resumo, 5µL da amostra e dos pontos da curva padrão de AGNE (variação entre 0,0625 mmol.L<sup>-1</sup> e 1,0 mmol.L<sup>-1</sup>), foram pipetados em microplaca e seguidos da aplicação de 225µL dos reagentes de trabalho (R1+R2). Após a homogeneização e incubação, a 37°C, durante 4 minutos, a absorbância foi determinada através de leitor de microplaca, a 660nm (Leitora para microplacas Thermo Fischer Scientific®, Vantaa, Finlândia).

### **4.10. Avaliação do estado redox no plasma e tecidos hepático e muscular**

#### **4.10.1. Obtenção do homogenato tecidual**

Aproximadamente 100 mg de tecido (hepático e muscular) proveniente de cada animal dos grupos experimentais, previamente armazenados em biofreezer a -80°C, foram transferidos para tubos apropriados, adicionou-se uma solução tampão de lise do tipo RIPA (*RadioImmuno Precipitation Assay*) contendo um coquetel de inibidores de proteases (Roche®) obedecendo a uma razão de peso/volume (P/V) de 1:10 (100mg de amostra/900 µL de RIPA). Após a adição da solução de lise cada amostra foi cuidadosamente homogeneizada com a utilização do aparelho homogeneizador. Ao final do processo de homogeneização cada amostra foi sonicada por 20 segundos (ondas ultrassônicas; 40W). Na sequência, as amostras foram submetidas à centrifugação, por 20 minutos, a 14.000 rpm, a 4°C. Após esse procedimento, o sobrenadante de cada amostra foi transferido para tubos em diferentes alíquotas e armazenado a -80°C para posteriores análises.

#### 4.10.2 Peroxidação lipídica

Usado como um marcador de estresse oxidativo, este parâmetro foi determinado, mensurando-se as substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), principalmente a formação de malonildialdeído (MDA). Este é um método indireto conveniente para se determinar o grau de peroxidação lipídica. Assim, a mensuração destes metabólitos foi realizada em microplacas de acordo com o método descrito por Wallin e Colaboradores (1993) com adaptações realizadas por Rabêlo (2004). Inicialmente, foram retirados os tubos que estavam no freezer  $-80^{\circ}\text{C}$ , colocados em uma estante com gelo, e a eles foi adicionado  $10\ \mu\text{L}$  do antioxidante BHT (“butylated hydroxytoluene”; hidroxitolueno butilado;  $[\text{BHT}]_{\text{final}} = 5\text{mM}$ ), aos  $50\ \mu\text{L}$  de plasma, em seguida foi adicionado  $1000\ \mu\text{L}$  de uma solução de ácido tiobarbitúrico a 1,3% (Sigma<sup>®</sup>, USA). Com os tubos fechados, durante 60 minutos as amostras foram incubadas a  $100^{\circ}\text{C}$ , e sequencialmente centrifugadas e plaqueadas, a leitura foi realizada em um leitor para microplacas (Thermo Fisher Scientific<sup>®</sup>, Vantaa, Finlândia), no comprimento de onda de 532 nm e 600 nm. Os valores foram expressos como equivalentes de MDA em  $\mu\text{mol}\cdot\text{mL}^{-1}$  e normalizados pela concentração de proteínas totais no plasma e/ou tecidos (Método de BRADFORD, 1976).

#### 4.10.3. Mensuração da atividade da superóxido dismutase

A atividade enzimática da superóxido dismutase (SOD) no músculo foi mensurada através do *kit* comercial (Sigma<sup>®</sup>) em microplacas. Resumidamente, o método utiliza um sal hidrossolúvel, o WST-1 (2-(4-Iodofenil)-3-(4-nitrofenil)-5-(2,4-disulfofenil)-2H tetrazólio, sal monossódico), que é reduzido pelo  $\text{O}_2^-$ , formando o cromógeno “formazana”. A taxa de redução é linearmente relacionada à atividade da enzima xantina oxidase, a qual é inibida pela SOD. Assim, a atividade desta enzima é expressa como porcentagem de inibição da xantina oxidase pela SOD. Os dados foram normalizados pela concentração de proteínas (Método de BRADFORD, 1976).

#### **4.10.4 Mensuração da atividade catalase**

A mensuração da atividade da catalase (CAT) foi realizada em microplaca (Nunc®, Dinamarca) nas amostras de plasma e tecidos hepático e muscular de acordo com o descrito por Fonseca e colaboradores (2014). A atividade enzimática foi normalizada pela concentração tecidual de proteínas (PTNs) totais, mensuradas através do método colorimétrico de Bradford (1976).

#### **4.10.5 Mensuração da atividade da arginase**

Para mensurar a atividade enzimática da arginase foi usado um método colorimétrico (em amostras plasmáticas e teciduais) de acordo com o descrito por FONSECA e colaboradores (2014). Os dados foram normalizados pela concentração de proteínas totais (BRADFORD, 1976) e a atividade enzimática, expressa em [Ureia] mmol.min<sup>1</sup>/[Proteína]·mL.mg<sup>-1</sup>.

#### **4.10.6 Mensuração de níveis de nitrito**

Esta dosagem é muito utilizada como um indicador indireto da produção de NO (GIRALDEZ; ZWEIER, 1998). Para tal, foi utilizado homogenato de tecido hepático e muscular para determinação colorimétrica de NO<sub>2</sub><sup>-</sup>. O homogenato foi pipetado em microplacas e realizou-se a mensuração do nitrito a partir da reação de Griess. Na reação de Griess o nitrito reage com a sulfanilamida em meio ácido. O diazo composto formado reage com o cloridrato de N-(L-naftil)etilenodiamina (NED), gerando um composto de coloração róseo. A reação é controlada pelo tempo, e o produto é formado entre 10 minutos e 2 horas após a mistura dos reagentes e a leitura realizada espectrofotometricamente a um comprimento de onda de 540nm. Para completar esta otimização, foi realizada a dosagem de proteínas pelo método de Bradford (1976).

### **4.11 Análises estatísticas**

Para tabulação e análise estatística dos resultados foram utilizados os programas Excel® (Microsoft) e Graph Pad Prism® 5.0, respectivamente. Os



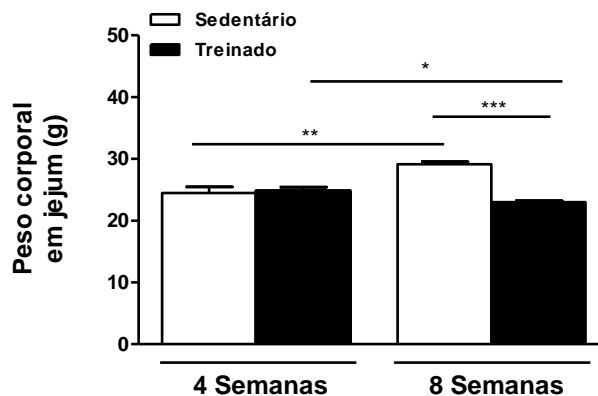
resultados foram apresentados como médias  $\pm$  erro padrão da média (EPM). Para comparação entre duas amostras, utilizou-se o teste *t* de Student conforme a equivalência e normalidade dos dados. Para comparação entre três ou mais grupos, foi empregada a análise de variância (ANOVA), segundo os efeitos dos fatores testados (*one way*). Quando a ANOVA revelou a existência de significância, utilizou-se o pós-teste de *Bonferroni*, a fim de identificar quais grupos diferiram entre si. Foram considerados estatisticamente significativos os valores de  $p < 0,05$ .

## 5. RESULTADOS

### 5.1 Peso corporal e avaliação do perfil biométrico dos animais

O peso corporal dos animais ao final dos protocolos de natação está representado no gráfico 1. Observa-se que não houve diferença significativa entre os grupos após 4 semanas de natação. Contudo, 8 semanas de natação diminuiu significativamente o peso corporal do grupo T8 quando comparado ao sedentário (CT8). Somando-se, observa-se uma diminuição significativa do peso corporal do grupo treinado por 8 semanas comparado ao grupo treinado por 4 semanas. Por outro lado, o grupo sedentário CT8 apresentou um aumento significativo do peso corporal comparado ao CT4, provavelmente por influência do incremento na idade destes animais, uma vez que se trata de animais controle não submetidos aos treinamentos.

**Gráfico 1 – Peso corporal dos camundongos submetidos ao protocolo de natação de 4 e 8 semanas**



Peso corporal dos animais ao final do protocolo de natação por 4 e 8 semanas. Os valores são expressos em gramas (g). Cada barra do gráfico representa a média  $\pm$  EPM. (n=4-6). ANOVA 1 via com pós-teste de *Bonferroni*: \*\*\* $p < 0,0001$  T8 vs CT8, \*\* $p < 0,001$  CT4 vs CT8, \* $p < 0,05$  T4 vs T8.

A tabela 3 mostra os resultados em relação às características biométricas dos animais. Os dados demonstram que os animais de ambos os grupos treinados diminuiram o delta de peso em relação aos seus respectivos controles, sobretudo o grupo T8 comparado ao CT8 e demais grupos ( $p < 0,0001$ , T8 vs T4;  $p < 0,0001$ , T8 vs

CT8). Os dados demonstram que não houve alteração significativa no crescimento dos animais, uma vez que o comprimento tibial não diferiu entre os grupos. No entanto, o grupo T8 apresentou menor comprimento céfalo-anal comparado ao grupo sedentário CT8. Somando-se, à circunferência abdominal não diferiu significativamente entre os grupos.

**Tabela 3. Características biométricas dos camundongos submetidos ao protocolo de natação por 4 e 8 semanas.**

Parâmetros	Grupos			
	CT4 (4)	T4 (6)	CT8 (4)	T8 (6)
<b>Δ Peso corporal (g) (final – basal)</b>	2,21 ± 0,71	1,62 ± 0,22	8,76 ± 0,57	4,03 ± 0,39 <sup>a,b,c</sup>
<b>Tíbia direita (cm)</b>	1,77 ± 0,025	1,78 ± 0,016	1,72 ± 0,025	1,71 ± 0,016
<b>Comprimento céfalo-anal (cm)</b>	9,85 ± 0,184	10,0 ± 0,105	10,3 ± 0,143	9,75 ± 0,117 <sup>d</sup>
<b>Circunferência abdominal (cm)</b>	7,17 ± 0,165	7,41 ± 0,155	7,75 ± 0,232	7,38 ± 0,140

Os valores são expressos em média ± EPM. ANOVA de uma via, pós-teste de *Bonferroni*. O número de camundongos está indicado entre parênteses.

<sup>a</sup>  $p < 0,0001$  T8 comparado com CT8

<sup>b</sup>  $p < 0,0001$  T8 comparado com T4

<sup>c</sup>  $p < 0,001$  T8 comparado com T4

<sup>d</sup>  $p < 0,05$  T8 comparado com CT8

Os valores de peso relativo tecidual estão representados na tabela 4. Os tecidos adiposos epididimal ( $p < 0,05$ , T8 vs CT8) e perirenal ( $p < 0,0001$ , T8 vs CT8) aumentaram significativamente no grupo treinado por 8 semanas. De forma diferenciada, o tecido adiposo marrom mostrou-se significativamente maior em ambos os grupos treinados comparados aos respectivos controles ( $p < 0,0001$ , T4 vs CT4; T8 vs CT8). O peso tecidual do fígado foi significativamente diminuído no T8 comparado ao T4, enquanto no T4 ocorreu aumento em relação ao CT4, e, contrariamente, há diminuição estatisticamente significativa do T8 em comparação com o CT8 ( $p < 0,001$ , T4 vs T8; T4 vs CT4; T8 vs CT8). O peso relativo do coração e dos rins não diferiu entre os grupos. Entretanto, observa-se uma diminuição significativa do peso relativo do baço após o treinamento por 8 semanas ( $p < 0,05$ , T8 vs CT8). O músculo gastrocnêmio diminuiu significativamente no grupo T8 comparado ao T4 ( $p < 0,0001$ , T8 vs T4). Por outro lado, não se observa diferença entre os grupos quanto ao peso relativo do sóleo.

**Tabela 4. Características teciduais dos camundongos submetidos ao protocolo de natação por 4 e 8 semanas.**

Parâmetro	Grupo CT4	Grupo T4	Grupo CT8	Grupo T8
Adiposo Epididim. relativo (%)	1,07 ± 0,121	1,11 ± 0,115	0,90 ± 0,057	1,18 ± 0,077 <sup>a</sup>
Adiposo Perirenal relativo (%)	0,24 ± 0,057	0,20 ± 0,032	0,15 ± 0,0083	0,25 ± 0,012 <sup>b</sup>
Mesentérico (%)	33.52 ± 4.22	33.95 ± 3.38	32.39 ± 1.77	34.76 ± 1.862
Adiposo Marrom relativo (%)	0,37 ± 0,0085 <sup>c</sup>	0,98 ± 0,044 <sup>d, e</sup>	0,25 ± 0,011	0,70 ± 0,039 <sup>b</sup>
Fígado relativo (%)	4,35 ± 0,10	4,81 ± 0,1179 <sup>f, g</sup>	4,52 ± 0,075	4,32 ± 0,030 <sup>h</sup>
Coração relativo (%)	0,55 ± 0,032	0,62 ± 0,014	0,57 ± 0,029	0,59 ± 0,014
Renal relativo (%)	1,29 ± 0,020	1,27 ± 0,058	1,27 ± 0,039	1,29 ± 0,025
Baço relativo (%)	0,263 ± 0,027	0,227 ± 0,025	0,336 ± 0,024	0,243 ± 0,025 <sup>a</sup>
Gastrocnêmio relativo (%)	1,51 ± 0,033	1,41 ± 0,036 <sup>e</sup>	1,12 ± 0,017	1,10 ± 0,050
Sóleo relativo (%)	0,074 ± 0,0057	0,081 ± 0,0038	0,068 ± 0,0021	0,073 ± 0,0037

Os valores são expressos em média ± EPM. ANOVA de uma via, pós-teste de *Bonferroni*.

<sup>a</sup>  $p < 0,05$  T8 comparado com CT8

<sup>b</sup>  $p < 0,0001$  T8 comparado com CT8

<sup>c</sup>  $p < 0,0001$  CT4 comparado com CT8

<sup>d</sup>  $p < 0,0001$  T4 comparado com T8

<sup>e</sup>  $p < 0,0001$  T4 comparado com CT4

<sup>f</sup>  $p < 0,001$  T4 comparado com T8

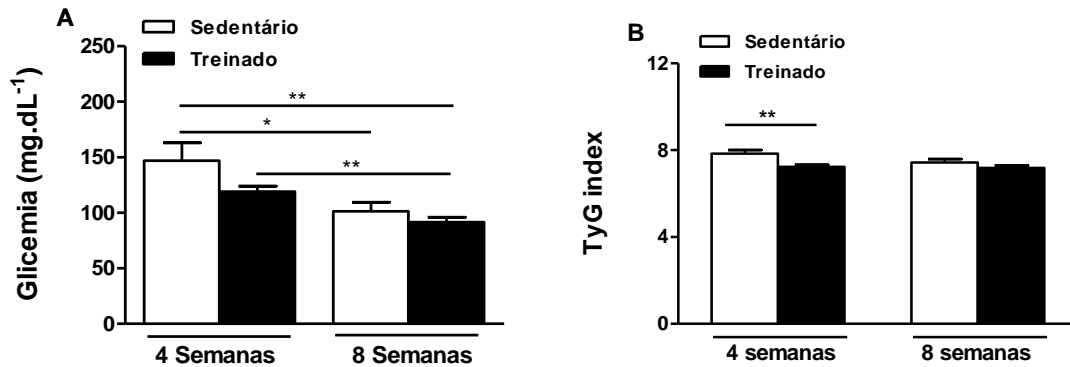
<sup>g</sup>  $p < 0,001$  T4 comparado com CT4

<sup>h</sup>  $p < 0,001$  T8 comparado com CT8

## 5.2 Perfil glicêmico

Os níveis de glicose foram mensurados ao término do protocolo de treinamento físico. Observa-se, nos gráficos 2A e B, os resultados do nível glicêmico e do índice TyG, respectivamente. Nota-se uma diminuição no nível de glicose em jejum do grupo T8 quando comparado aos grupos CT4 e T4. Ocorreu também diminuição nos níveis glicêmicos no grupo CT8 comparado ao CT4 ( $p < 0,001$  T8 vs CT4, T8 vs T4;  $p < 0,05$  CT8 vs CT4). Os dados observados no gráfico 7B, que representam um método indireto de avaliação da sensibilidade à insulina, sugere uma melhora neste parâmetro induzida pelo treinamento durante 4 semanas ( $p < 0,001$  T4 vs CT4), uma vez que o índice foi significativamente menor no grupo T4 quando comparado ao CT4. Por outro lado, o treinamento por 8 semanas não alterou este parâmetro.

**Gráfico 2 – Avaliação do perfil glicêmico dos camundongos submetidos ao protocolo de natação de 4 e 8 semanas**

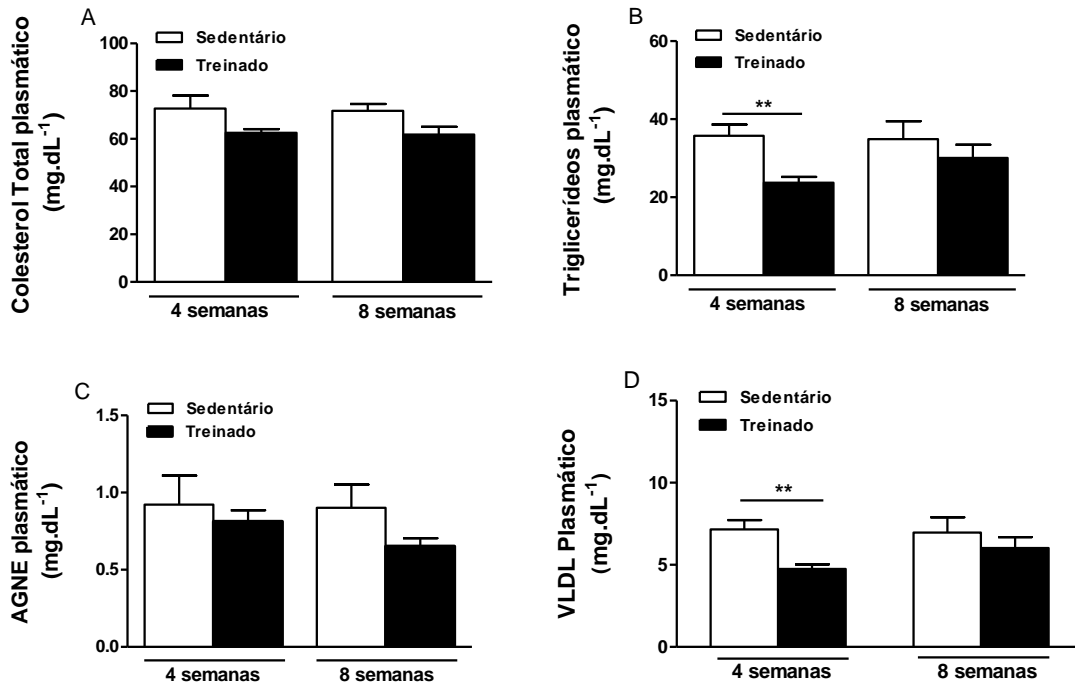


A – Glicemia de jejum (mg.dL<sup>-1</sup>); B – Índice TyG ao final do protocolo de natação por 4 e 8 semanas. Cada barra do gráfico representa a média ± EPM. (n=4-6). ANOVA 1 via com pós-teste de *Bonferroni*: **A** \*\* $p < 0,001$  T8 vs CT4, T4 vs T8, \* $p < 0,05$  CT4 vs CT8. **B** \*\* $p < 0,001$  T4 vs CT4.

### 5.3 Perfil lipídico plasmático

No gráfico 3, tem-se as frações de triglicerídeos, colesterol total, AGNE e VLDL no plasma. Não se observou alteração significativa nos níveis de colesterol total e AGNE plasmáticos entre os grupos de ambos os protocolos de natação. Entretanto, os níveis de triglicerídeos e VLDL plasmáticos foram reduzidos significativamente após 4 semanas de natação ( $p < 0,001$ , T4 vs CT4), mas não após 8 semanas.

**Gráfico 3 - Avaliação do perfil lipídico plasmático dos camundongos submetidos ao protocolo de natação de 4 e 8 semanas**

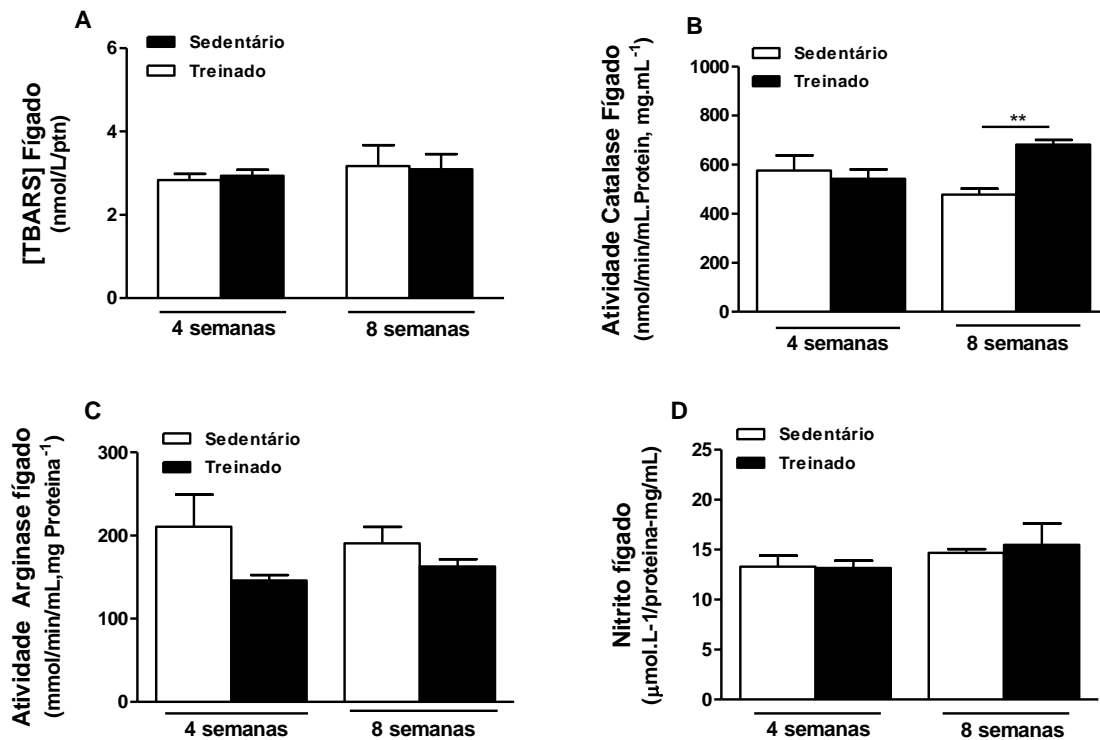


A – Colesterol total plasmático (mg.dL<sup>-1</sup>); B – Triglicerídeos plasmáticos (mg.dL<sup>-1</sup>); C – Ácidos graxos não esterificados no plasma (mg.dL<sup>-1</sup>); D – VLDL plasmático (mg.dL<sup>-1</sup>) ao final do protocolo de natação por 4 e 8 semanas. Cada barra do gráfico representa a média  $\pm$  EPM. (n=4-6) ANOVA 1 via pós-teste de *Bonferroni*. \*\* $p < 0,001$  T4 vs CT4.

#### 5.4 Perfil Redox hepático

Ao término do período experimental, avaliou-se a peroxidação lipídica hepática e os resultados estão expressos no gráfico 4. Os dados indicam que não houve diferença significativa entre os grupos de ambos os protocolos de treinamento para este parâmetro. Da mesma forma, a atividade da enzima arginase e dos níveis de nitrito não diferiram entre os grupos avaliados (Gráfico 4C e D, respectivamente). Contudo, a atividade da catalase, expressa em unidade enzimática, aumentou significativamente no grupo submetido ao treinamento físico por 8 semanas ( $p < 0,001$  T8 vs CT8; Gráfico 4B).

**Gráfico 4 – Avaliação do status redox no fígado dos camundongos submetidos ao protocolo de natação de 4 e 8 semanas**

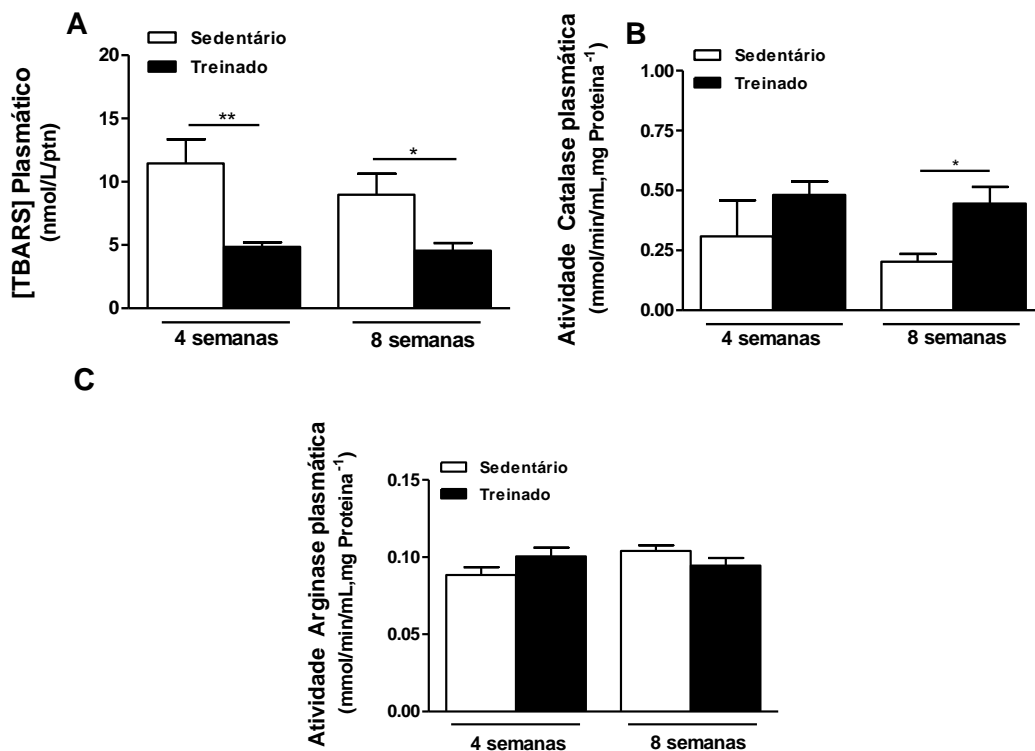


A – TBARS hepático (nmol/L.proteína<sup>-1</sup>); B – Catalase hepática (nmol/min/mL.proteína<sup>-1</sup>); C – Arginase hepática (mmol/min/mL.proteína<sup>-1</sup>); D – Nitrito hepático (μmol/L.proteína<sup>-1</sup>) ao final do protocolo de natação por 4 e 8 semanas. Cada barra do gráfico representa a média ± EPM. (n=4-6) ANOVA 1 via com pós-teste de *Bonferroni*: \*\* $p < 0,001$  T8 vs CT8.

## 5.5 Perfil Redox plasmático

No plasma, observou-se uma diminuição significativa na peroxidação lipídica entre os grupos treinados comparado aos seus respectivos controles sedentário ( $p < 0,001$  T4 vs CT4;  $p < 0,05$  T8 vs CT8). A catalase plasmática aumentou significativamente no grupo submetido ao treinamento físico durante 8 semanas ( $p < 0,001$  T8 vs CT8). Contudo, a atividade da enzima arginase não se mostrou significativamente alterados entre os grupos avaliados (gráfico 5A, B e C).

**Gráfico 5 – Avaliação do status redox no plasma dos camundongos submetidos ao protocolo de natação de 4 e 8 semanas**



A –TBARS plasmático (nmol/l.proteína<sup>-1</sup>); B – Catalase plasmática (nmol/min/mL.proteína<sup>-1</sup>); C – Arginase plasmática (mmol/min/mL.proteína<sup>-1</sup>); D – Nitrito plasmático (µmol/L.proteína<sup>-1</sup>) ao final do protocolo de natação por 4 e 8 semanas. Cada barra do gráfico representa a média ± EPM. (n=4-6). ANOVA 1 via com pós-teste de *Bonferroni*: \*\* $p < 0,001$  T4 vs CT4, \* $p < 0,05$  T8 vs CT8.

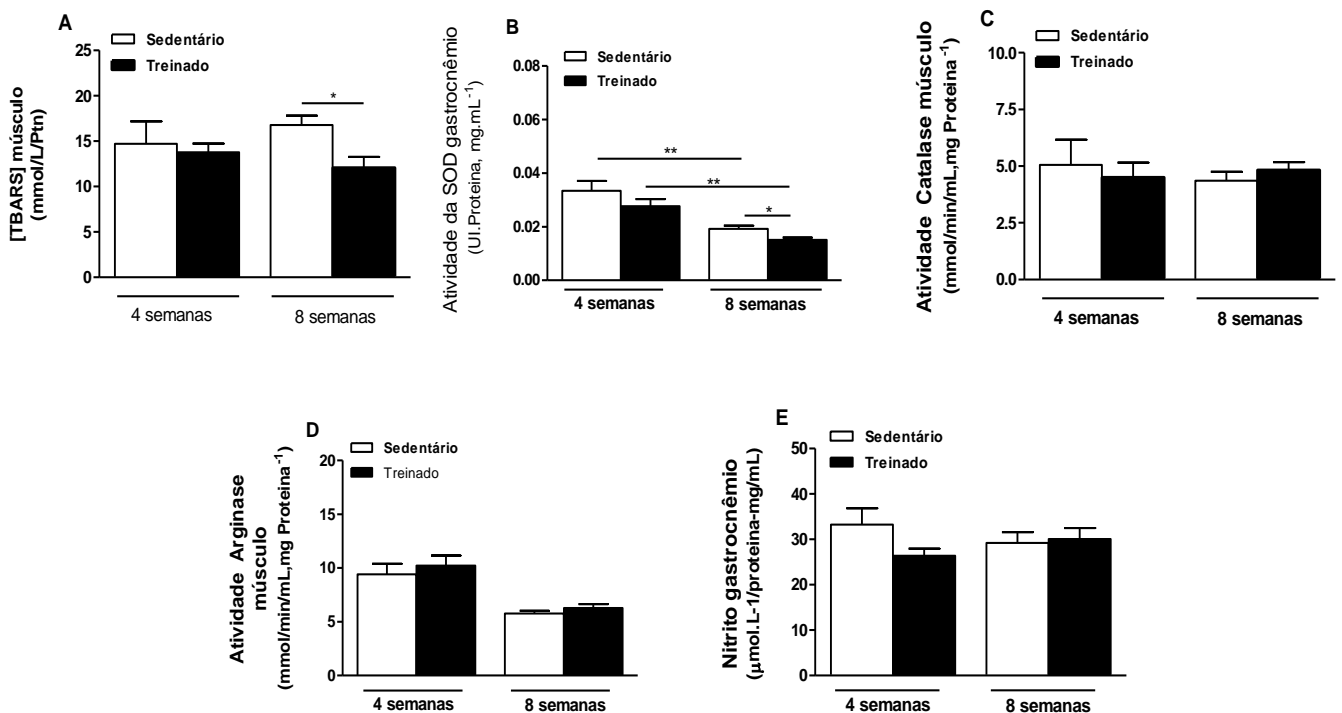
## 5.6 Perfil Redox no músculo gastrocnêmio

No gráfico 6, observa-se que o treinamento físico por 8 semanas diminuiu a peroxidação lipídica no músculo gastrocnêmio ( $p < 0,05$  T8 vs CT8; (Gráfico 6A). A atividade da SOD foi significativamente diminuída após 8 semanas de natação, tanto comparado ao sedentário (CT8) quanto ao grupo treinado por 4 semanas (T4) (Gráfico 6B). A atividade da catalase não diferiu entre os grupos (Gráfico 6C). Quanto à atividade da arginase, não foi diferente entre os grupos (Gráfico 6D). Observa-se que a concentração de nitrito não foi diferente entre os grupos (Gráfico 6E). Considerando os resultados citados e somando-se os dados de outros tecidos avaliados, sugere-se



que as respostas redox parecem ser tecido-dependente. Neste sentido, a exposição ao exercício crônico moderado pode levar à diminuição de estresse oxidativo, aumentando a eficiência do sistema enzimático antioxidante, como exemplo a atividade aumentada a catalase no fígado (Gráfico 4B) e no plasma (Gráfico 5B).

**Gráfico 6 – Avaliação do status redox no músculo dos camundongos submetidos ao protocolo de natação de 4 e 8 semanas**



A –TBARS no músculo (nmol/l.proteína<sup>-1</sup>); B – Superóxido dismutase no músculo (nmol/min/mL.proteína<sup>-1</sup>); C – Catalase no músculo (nmol/min/mL.proteína<sup>-1</sup>); D – Arginase no músculo (mmol/min/mL.proteína<sup>-1</sup>); E – Nitrito no músculo μmol/L.proteína<sup>-1</sup>) ao final do protocolo de natação por 4 e 8 semanas. Cada barra do gráfico representa a média ± EPM. (n=4-6). ANOVA 1 via com pós-teste de *Bonferroni*: A \**p* < 0,05 T8 vs CT8; B \**p* < 0,05 T8 vs CT8; \*\**p* < 0,001 T4 vs T8; \*\**p* < 0,001 CT4 vs CT8.

## 6. DISCUSSÃO

Considerando-se a importância de desenvolver um protocolo de treinamento físico adequado que, por sua vez, possa ser utilizado em estudos futuros para melhor entender os efeitos que a prática de exercício físico exerce no organismo, o presente estudo representa o primeiro de nosso grupo envolvendo o modelo animal e exercício físico. Neste sentido, tem-se o intuito de contribuir para o entendimento de possíveis benefícios em alguns parâmetros metabólicos e oxidativos que, de fato, são modulados em resposta à prática regular de exercício físico.

Nossos achados demonstram que os animais submetidos ao protocolo de natação apresentaram mudanças metabólicas e oxidativas, observadas, principalmente, através do aumento da eficiência do sistema enzimático antioxidante. Em estudo antigo, Oscai & Holloszy (1969) observaram associação de maior gasto calórico e menor ingestão de alimentos, resultando em redução de peso corporal de animais submetidos a exercícios prolongados e vigorosos. Segundo Hunter e colaboradores (2010), é recomendado para manutenção e/ou controle de peso corporal o treinamento físico aeróbico, sobretudo pelo aumento do gasto calórico, interferindo, conseqüentemente, no equilíbrio energético. Em nosso estudo, animais treinados durante 8 semanas apresentaram redução no peso corporal, o que sugere demanda metabólica superior quando comparados aos sedentários. Em animais, esses resultados demonstram o que, clinicamente, na literatura é consensual, ou seja, o exercício físico, principalmente de predominância aeróbia e praticado regularmente, pode causar maior mobilização dos estoques lipídicos, sendo capaz de alterar a composição corporal, possivelmente levando à redução da massa gorda e aumento da massa magra com captação de ácidos graxos (SILVEIRA et al., 2008). Contudo, em humanos, os mecanismos abordados ainda não são claros.

Como é observado em diversos estudos, o treinamento físico favorece a utilização de lipídios como fonte energética, causando a redução do peso corporal (KEITH et al., 2006; GOLLISCH et al., 2009). Entretanto, a maioria dos estudos diz respeito ao tipo de exercício de resistência ou aeróbio que mobiliza predominantemente reservas de gordura corporal como fonte de energia (SLENTZ et al., 2011; BRAY, 2012).

De acordo com Zanella e colaboradores (2011), ainda não há um consenso a respeito de qual o melhor tipo de exercício ou intensidade que deveria ser praticado,

embora a prática de exercícios físicos possa ser benéfica para a saúde. Nesse sentido, salienta-se, no presente trabalho, a importância da adequação de variáveis como duração e frequência do exercício para melhores respostas sobre parâmetros fisiológicos.

No que concerne ao metabolismo glicêmico, o que é discutido na literatura científica é que o exercício físico aeróbio regular atua sobre mecanismos que contribuem para a homeostasia da glicose. Segundo De FRONZO (2004), um grama de músculo pode remover do sangue mais glicose do que um grama de tecido adiposo, considerando um estímulo insulínico equivalente. Neste sentido, há diferença com relação à participação quando se compara o tecido adiposo e o músculo esquelético, essa diferença é acentuada de acordo com o condicionamento físico: maior capacidade para captação de glicose tem o músculo “treinado” mais que o músculo “não treinado” (FLUCKY et al., 1994). De acordo com Pereira & Lancha (2003), a concentração de GLUT 4 nas membranas aumenta em 5 vezes, de forma independente da ação da insulina, o que otimiza o transporte de glicose para o interior dos tecidos, frente à elevação da atividade contrátil das fibras musculares. De acordo com Delarue & Magnan (2007), o EFA regular pode melhorar a sensibilidade à insulina (MANN et al., 2014). Os mecanismos envolvidos são aumento do conteúdo do transportador de glicose GLUT4 em resposta à insulina e ao exercício físico, aumento da captação de glicose e aumento da capacidade do complexo piruvato desidrogenase em oxidar a glicose (SARACENI & BRODERICK, 2007).

Embora a literatura tenha relatado associação entre a melhora do perfil glicêmico em indivíduos treinados, é importante saber o quanto o exercício físico seria capaz de promover benefícios nesse parâmetro metabólico. Em nosso estudo, observou-se que o exercício físico aeróbico regular atua sobre mecanismos que contribuem para a homeostasia da glicose, uma vez que o índice de resistência à insulina foi diminuído após 4 semanas de natação, assim como a glicemia de jejum após 8 semanas de treinamento, corroborando com o já bem documentado, que o EFA age na modulação do metabolismo glicídico (PEREIRA & LANCHA, 2004; PEDERSEN & FISCHER, 2007; AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2010, O'NEILL et al., 2011; MANN et al., 2014; BAE et al., 2016).

De fato, são apontados mecanismos responsáveis pela melhora na sensibilidade à insulina induzida pelo exercício. Destaca-se que Froberg (1972) mostrou que apenas uma única sessão de exercício físico pode promover efeitos

benéficos para o metabolismo glicêmico, enquanto Karlsson e colaboradores (1974) mostraram que a prática regular do exercício pode ajudar na manutenção desses efeitos, pois tais efeitos gerados pelo exercício físico possuem respostas transitórias. No estudo de Song e colaboradores (1998), ratos espontaneamente hipertensos foram submetidos ao treino de natação o que resultou na melhora da hipertensão, da sensibilidade à insulina e conteúdo de GLUT4 em resposta ao treinamento físico de 4 semanas de natação.

Mais estudos foram realizados, sobretudo os pioneiros como os de Wotjaszewski e colaboradores (1999) e Luciano e colaboradores (2002) autores que mostraram o efeito do exercício físico na captação da glicose em nível molecular; os primeiros mostraram que houve aumento da captação da glicose após o exercício em animais com deleção gênica do receptor para insulina (IR). Neste sentido, contribuindo-se com estes, os estudos de Luciano e colaboradores (2002) mostraram que após uma sessão de natação, ratos magros tiveram uma melhor captação de glicose sem haver diferença na fosforilação do receptor da insulina (IR). Assim, uma vez que a prática do exercício consegue fosforilar o substrato do receptor da insulina, de forma direta, os estudos supracitados concluíram que o receptor da insulina não é único na captação da glicose. Além desses, mais estudos foram realizados, como o de Ghiasi e colaboradores (2015), os quais induziram ao diabetes, ratos wistar que consumiram por duas semanas uma dieta (22% lipídios, 48% carboidratos e 20% proteínas), em seguida foi aplicada uma dose de STZ (35 mg/kg) (i.p). Estes animais foram divididos em 4 grupos que foram submetidos ao treinamento de natação por 10 semanas, 5 dias por semana em sessão de 60 minutos. Os resultados deste estudo indicaram que o treinamento de natação melhorou o controle glicêmico e a sensibilidade à insulina no diabetes tipo 2. No estudo de Bae e colaboradores (2016), ratos “Sprague-Dawley”, divididos em 6 grupos com dieta normal e intervenção dietética, foram submetidos por 8 semanas ao treinamento de intensidade moderada em corrida na esteira, o exercício regular mostrou um efeito positivo sobre o metabolismo, com melhora na obesidade e na resistência à insulina.

Como descrito anteriormente, diversos trabalhos têm mostrado os efeitos do exercício físico na sensibilidade à insulina em uma única sessão de exercício físico, ou seja, o exercício realizado de maneira aguda aumenta a sensibilidade à insulina (PAULI et al., 2010). Desse modo, a melhora do perfil glicêmico em resposta ao treinamento físico aeróbio está diretamente relacionada com as mudanças na

sensibilidade da via insulínica e, em adição a isso ocorrem também mudanças na via de sinalização intracelular independente da insulina, como a via modulada pela proteína quinase ativada por AMP (AMPK). Esta atua nas vias de captação de glicose e oxidação de ácidos graxos o que contribui no estabelecimento de homeostase glicêmica. De acordo com Holmes, Kurth-Kraczek e Winder (1999), durante o exercício agudo, sabe-se que a ativação de AMPK estimula uma maior captação de glicose com o GLUT4 translocado à superfície celular esquelética. Ou seja, a melhora da sensibilidade à insulina ocorre por meio de atuação direta nas vias de sinalização, simultaneamente à elevação do consumo de glicose pelo musculo esquelético independente de insulina, possivelmente pela via da AMPK (YOUNG et al., 2009; JESSEN et al., 2011).

Em outros estudos, como o de Wu e colaboradores (2015), animais experimentais que consumiram dieta *high fat* tiveram aumento de 4% da glicemia de jejum na 12<sup>a</sup> semana, no entanto, o grupo que consumiu a dieta *high fat* e foi submetido ao exercício de natação com duração de 10 semanas, após 2 semanas de adaptação, e apresentaram redução na glicemia de jejum em 30% comparado ao sedentário que consumiu dieta padrão. Desta forma, observa-se que diversos estudos indicam que os exercícios físicos promovem melhorias fisiológicas em animais com agravos como obesidade e hipertensão.

Em nosso estudo, os grupos treinados mostraram diminuição na concentração da glicose de jejum, o que pode ser justificado pela maior demanda energética, sobretudo o grupo treinado 2 vezes ao dia que foram submetidos ao protocolo de treinamento de 4 (quatro) semanas, apresentando efeitos mais positivos em relação ao metabolismo glicêmico. Como não foram realizados testes metabólicos, fez-se a avaliação indireta da resistência à insulina através do cálculo do índice TyG, caracteriza-se como um importante parâmetro tanto de análise como de fácil execução (DU et al., 2014). Nesse sentido, o grupo treinado por 4 semanas apresentou uma melhora na sensibilidade à insulina. Entretanto, diminuição significativa da glicemia de jejum só foi observada após 8 semanas de treinamento com menor intensidade.

No músculo esquelético, o exercício físico aumenta a captação e oxidação de glicose e de ácidos graxos a partir do sangue (JØRGENSEN, JENSEN e RICHTER, 2007). Quando o exercício é repetido ao longo do tempo ocorrem adaptações ao treinamento físico que incluem o aumento da expressão da proteína GLUT-4 e da

glicogênio sintase, alterações nas fibras musculares e aumento da capilarização. Como uma única sessão de exercício e o treinamento físico regular melhora a sensibilidade à insulina, sendo esta uma ferramenta considerada importante na prevenção e tratamento de condições de baixa sensibilidade à insulina, como a síndrome metabólica e diabetes tipo 2 (WOJTASZEWSKI; RICHTER, 2006).

Riddell e colaboradores (2006) evidenciaram ser uma tendência à diminuição dos valores de glicose sanguínea tanto durante quanto após o exercício. Por outro lado, vale salientar que grandes volumes de exercícios em sessões únicas podem desencadear lesões, desgastes e exaustão, ou seja, efeitos indesejáveis à saúde (TALBOT et al., 2007). Isto reforça a necessidade de praticar o exercício com regularidade e frequência para obter como possível resposta adaptativa, a sensibilidade à insulina incrementada (CIOLAC e GUIMARÃES 2004). Zanella e colaboradores (2011) estudaram um grupo de jogadores de futebol e compararam a um grupo de homens na população geral que não se exercitavam, observaram que a glicemia foi maior no grupo controle quando comparado aos praticantes de exercício físico. Corroborando o estudo anterior, no qual a atividade não foi de natação, porém mostrou melhora no nível de glicemia, Cox e colaboradores (2010) mostraram que a natação de intensidade moderada mostra ser mais eficiente comparado à caminhada de intensidade moderada na melhora da resposta à insulina em mulheres sedentárias com idade entre 50 a 70 anos. Além disso, em estudos realizados em ratos (SONG et al., 2014) e camundongos C57BL/6 obesos (MOTTA et al., 2015), a natação demonstrou facilitar o controle da glicose e sensibilidade à insulina.

É fato conhecido o efeito de diminuição do peso corporal causado pelo exercício físico, porém a maioria dos estudos diz respeito ao tipo de exercício de resistência ou aeróbico que mobiliza predominantemente reservas de gordura corporal como fonte de energia (KO et al, 2004; SLENTZ et al., 2011; BRAY, 2012). Nosso estudo mostrou que houve redução do peso corporal, sobretudo no grupo T8, bem como a diminuição nos níveis de TG e VLDL nos grupos de animais treinados por 4 semanas.

No contexto de avaliação de perfil lipídico, os efeitos do exercício físico são bem conhecidos. Na execução do exercício físico, o dispêndio energético e o requerimento de ácidos graxos como fonte de energia são maiores (NAGAI et al., 2004). Neste sentido, as pesquisas sugerem que o exercício físico pode ser uma medida terapêutica eficiente para prevenir e/ou atenuar agravos à saúde, como a

obesidade. Dessa forma, sugerem-se mais estudos para aprofundar o conhecimento sobre parâmetros desconhecidos afetados pelos exercícios físicos e, de tal forma, identificar se há melhor escolha quanto as variáveis de treinamento como duração, frequência, a intensidade e tipo de exercício para se obter melhores resultados com sua prática regular.

De acordo com Da Luz e colaboradores (2008), os TGs no plasma são derivados de gorduras em alimentos ingeridos ou a partir de outras fontes de energia. TGs plasmáticos em excesso são, positiva e independentemente, associados à doença cardiovascular. Quanto à VLDL, demonstrou-se que este biomarcador se correlaciona positivamente com TGs e pode ser independentemente associado ao risco cardiovascular, até mesmo em indivíduos com níveis normais de colesterol LDL (REN et al., 2010). Os dados do presente estudo sugerem que a prática de EFA com maior intensidade como o protocolo de 4 semanas exige maior demanda energética, uma vez que houve a diminuição de VLDL e níveis de TG no plasma, o que, por sua vez, pode ter refletido diretamente na sinalização da insulina, como foi observado pela diminuição do índice TyG.

Nosso estudo não mostrou diferença no colesterol total plasmático, um predisponente a complicações cardiovasculares (DOMANSKI et al., 2011); nem nos ácidos graxos não esterificados (AGNE) que, segundo Frayn, Williams & Arner (1996), durante o exercício, quando a gordura é mobilizada do tecido adiposo para abastecer os músculos que estão trabalhando, as concentrações podem subir um pouco, mas muitas vezes permanecem relativamente estáveis (HODHETTS et al., 1991; ROMIJN et al., 1993).

Meissner e colaboradores (2010) submeteram ratos a um protocolo de corrida durante duas semanas em roda de exercício voluntário - é relevante observar que os animais nem sempre correm. De acordo com as observações dos autores houve diminuição nos níveis plasmáticos de colesterol total dos ratos exercitados comparados aos sedentários. No entanto, o treinamento físico não ocasionou alterações nos níveis de TGs. Este estudo difere do nosso, uma vez que ocorreu diminuição nos níveis de TG e VLDL no grupo submetido ao protocolo de 4 semanas. Além das reservas de TGs no tecido adiposo intramuscular, algumas reservas de TGs intramusculares também podem ser utilizadas pelo músculo em atividade, bem como os ácidos graxos plasmáticos ligados às lipoproteínas, sobretudo a VLDL, e a albumina, que são hidrolisadas pela lipase lipoproteica (LPL) (HOROWITZ, 2003).

Sidossis e colaboradores (1998) sugeriram que uma das adaptações ao treinamento de resistência é o aumento da oxidação de gorduras e diminuição da utilização de carboidratos, devido à maior entrada de ácidos graxos no interior da mitocôndria. Resultados encontrados em nosso estudo, como a diferença entre o grupo treinado por 4 semanas comparado ao grupo controle, corroboram com outros já realizados, inclusive em modelos experimentais de obesidade induzidos pela dieta hiperlipídica como o realizado por Burneiko e colaboradores (2006). Neste último, foi observado redução do ganho de peso, redução dos TGs, VLDL e colesterol em ratos Wistar treinados com exercício aeróbico de natação durante 8 semanas, cinco vezes por semana.

Em outro estudo, Oh e colaboradores (2007) investigaram um modelo murino de obesidade com deficiência no receptor da leptina que foi submetido ao treinamento de natação durante 6 semanas. Os animais diminuíram, significativamente, o ganho de peso corporal e massa de tecido adiposo, em comparação com seus respectivos controles sedentários. Estes efeitos foram, particularmente, evidentes em camundongos obesos. Esse treinamento de natação também causou significativas reduções nos níveis séricos de TGs, AGNE e colesterol total tanto nos camundongos obesos como nos magros. Assim, esses resultados sugerem que a natação pode efetivamente prevenir distúrbios de ganho de peso corporal, adiposidade e desordens lipídicas. Além disso, reforçam a importância de estudos sobre exercício físico como medida adjuvante sobre os efeitos causados pelo consumo de dieta hipercalórica, como obesidade, síndrome metabólica, hiperlipidemia, diabetes tipo 2.

Neste contexto, é importante saber que uma única sessão de exercício físico, bem como ao longo de um treinamento, pode haver aumento da atividade da LPL, o que significa que indivíduos treinados tendem a apresentar uma maior atividade dessa enzima (CAMBRI et al., 2006). Corroborando, Kraus e colaboradores (2002) afirmaram que adaptações ao exercício físico e alguns efeitos sobre as dislipidemias são mais pronunciadas com o aumento de volume da sessão de exercícios. Somado a isso, sabe-se que a maior utilização de gordura como substrato energético ocorre próximo a 60-65%  $VO_2max$  (ACHTEN, JEUKENDRUP, 2003). Neste sentido, a predominância do substrato energético modifica-se à medida que a duração do exercício aumenta, sendo a fonte lipídica utilizada de forma acentuada (CROUSE et al., 1997; FERGUSON et al., 1998; DÂMASO, 2001).



A partir dos resultados observados neste trabalho, sugere-se que é possível promover alterações benéficas no perfil lipídico, adotando-se um estilo de vida saudável. Uma vez que é efetiva como medida não farmacológica na prevenção e tratamento de diversos fatores de risco cardiovascular, como hipertensão arterial, obesidade, dislipidemia, resistência à insulina e estresse (VI Diretrizes Brasileiras de Hipertensão Arterial, 2010), a prática de exercício físico aeróbico regular melhora o perfil lipídico sanguíneo, diminuindo concentração plasmática de TG e lipoproteína de baixa densidade (LDL), aumentando a concentração de lipoproteína de alta densidade (HDL) (KRAUS et al., 2002). Além disso, na dislipidemia, os efeitos do exercício físico sobre o perfil lipídico são bem conhecidos. Maiores níveis de HDL e menores de TG, LDL e VLDL, são apresentados por indivíduos ativos fisicamente quando comparados a indivíduos sedentários. Tais melhoras são independentes de sexo, peso corporal e da adoção de dieta (CIOLAC & GUIMARÃES, 2004). Além disso, aumenta o número de receptores que captam o LDL do plasma, resultando em menor exposição aos danos oxidativos (NUNES et al., 2010). Neste sentido, o EFA praticado com devido controle de intensidade e frequência é um indicativo para melhorar o perfil glicêmico e lipídico.

O exercício físico aeróbico promove efeitos positivos ao organismo não apenas em relação ao metabolismo glicêmico e lipídico, mas também ao perfil oxidativo sistêmico e tecidual, como visto no presente estudo. Sabe-se que o exercício está associado ao aumento da formação de ERONs, relacionado principalmente ao aumento do consumo de oxigênio pelos tecidos ativos (ZOPPI et al., 2003). Levando em consideração fatores como intensidade, duração e frequência de treinamento, estes podem levar a danos, pois o exercício físico intenso provoca um aumento de 10 a 20 vezes no consumo total de oxigênio do organismo e um aumento de 100 a 200 vezes na captação de oxigênio pelo tecido muscular, favorecendo o aumento na produção de ERONs (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 1999). No entanto, o treinamento físico também pode levar a adaptações benéficas como o aumento das defesas antioxidantes.

Neste sentido, são crescentes as evidências de que ERONs não só são tóxicos, mas também desempenham um papel importante na sinalização celular e na regulação da expressão do gene. Tratando de exercício físico, este pode provocar estresse oxidativo quando praticado exaustivamente. O que, por sua vez, chama atenção em nosso estudo, porque como vimos nos resultados, em murinos, estes

sugerem que a prática EFA regular com uma frequência moderada pode aumentar a atividade antioxidante, bem como diminuir a peroxidação lipídica, ou seja diminuir os danos ao organismo, o que parece ser um benefício, quando comparado à prática de EFA regular com maior frequência de treino e em mais sessões realizadas diariamente. Corroborando, Gomez-Cabrera e colaboradores (2005), discutem e mostram que o exercício extenuante provoca a oxidação da glutathione e outros sinais de danos às células. O que foi demonstrado no músculo gastrocnêmio de ratos exercitados. Utilizaram um teste de intensidade progressiva na esteira que consistia, inicialmente, de 5 min a 11 m.min<sup>-1</sup> com consecutivos incrementos de 3 m.min<sup>-1</sup> a cada 5 min. Os animais correram até exaustão que foi caracterizada como a incapacidade do animal se endireitar ao ser colocado para correr. Os ratos do grupo controle correram por 58 ± 7 min e ratos do grupo tratado com alopurinol (inibidor de XO) correram por 55 ± 5 min (ou seja, sem diferença). Desta forma o exercício ativou a via de NF-kB e, conseqüentemente, a expressão de enzimas importantes associados com a defesa contra ERONs, especificamente no estudo citado a SOD, e adaptação ao exercício físico. Uma das possíveis ações do exercício físico moderado é o aumento das defesas antioxidantes em diversos tecidos como resposta adaptativa, protegendo o organismo de ações deletérias das ERONS (GOMEZ-CABRERA et al., 2008).

Conforme anteriormente pontuado, estudos como este supracitado, evidenciam que a prática regular de EFA com frequência e duração controlada, realizado moderadamente e não de forma extenuante, podem resultar numa regulação positiva de enzimas antioxidantes, sendo possivelmente considerado um antioxidante. Promovendo adaptação benéfica como resposta ao treinamento físico aeróbico realizado de forma crônica por um longo período de tempo.

Tratando-se de nosso estudo, chama-nos atenção o protocolo de treinamento de 8 semanas. Haja vista que comparou-se dois protocolos com duração e frequência diferentes. Assim, as variações de frequência de treino são realizadas em relação ao número de sessões diárias. De acordo com autores como Tubino (1979) e Barbanti (1994), para determinação de protocolo de treinamento físico aeróbico, o método da duração é importante para a promoção de adaptações fisiológicas. Nesse sentido, a combinação adequada dessa variável com a frequência e uma intensidade leve a moderada é fundamental e pode influenciar na magnitude das adaptações fisiológicas ao treinamento. Neste sentido, salienta-se que é intento buscar a combinação mais

eficiente das variáveis do treinamento para a obtenção de respostas positivas em relação ao metabolismo lipídico e glicêmico, e, sobretudo ao “status” redox.

Os mecanismos de geração e adaptação das ERONs promovidos pela prática de exercício físico tornaram-se interessantes e aumentaram de forma significativa a partir da demonstração de sua relação com o consumo de oxigênio (CHILDS et al., 2001). A condição na qual a produção de ERONs supera a capacidade antioxidante intracelular de eliminá-las é conhecida como estresse oxidativo (FINAUD, LAC e FILAIRE, 2006). Este assunto é amplamente difundido na atualidade, uma vez que está intimamente ligado à gênese de algumas doenças, tais como aterosclerose, câncer, e também ao processo de envelhecimento (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2007). A relação entre exercício físico e o estresse oxidativo vem sendo amplamente investigada nos últimos 30 anos (FISCHER-WELLMAN e BLOOMER, 2009). Como benefício na diminuição de danos oxidativos, em nosso estudo, os animais de grupos treinados tiveram menor peroxidação lipídica, sobretudo o grupo de 8 semanas.

Somado a isso, em nossos achados, houve aumento da atividade antioxidante da enzima CAT no plasma e no fígado dos animais treinados por 8 semanas. A CAT é uma hemoproteína citoplasmática que catalisa a redução de  $H_2O_2$  a  $H_2O$  e  $O_2$ . De acordo com Murray (2014), essa enzima é encontrada no sangue, medula óssea, rim e fígado. Além desses dados, interessantemente, observou-se uma diminuição de peroxidação lipídica plasmática em ambos os grupos treinados e no músculo gastrocnêmio do grupo treinado por 8 semanas, sugerindo que o protocolo de treinamento aeróbico de 8 semanas previne a oxidação de membranas lipídicas e, conseqüentemente, a gênese de doenças como aterosclerose.

Conforme estudo realizado por Schneider e colaboradores (2004), destaca-se que o treinamento físico aumenta as defesas antioxidantes. No presente estudo, observa-se que o aumento da atividade da CAT sistêmica pode estar diretamente diminuindo os níveis de  $H_2O_2$  e, conseqüentemente, refletindo na diminuição da lipoperoxidação. Somando-se, a atividade da SOD, enzima considerada como primeira linha de defesa antioxidante, no tecido muscular após 8 semanas de treinamento esteve diminuída, sugerindo que o exercício aeróbico praticado com menor intensidade e menor frequência pode ser mais eficaz em diminuir os níveis de ânion superóxido e, por este motivo, o aumento da atividade desta enzima não foi requerido. Fato este que pode estar relacionado à adaptação do organismo à produção de substâncias oxidativas, sendo possível diminuir as chances de danos de

lipídios, proteínas e/ou DNA (ANDRADE; MARREIRO, 2011). Corroborando o exposto, houve a diminuição da peroxidação lipídica muscular induzida pelo exercício no protocolo de 8 semanas, o que sugere a diminuição na formação de outras espécies reativas e também a menor atividade da SOD, possivelmente, devido a menos substratos como o  $\cdot\text{O}_2^-$ .

As ERONs são produzidas normalmente pelo metabolismo celular, sugerindo o duplo papel desempenhado no organismo, sendo benéficas em algumas ocasiões e maléficas em outras. Em baixas e moderadas concentrações, essas espécies auxiliariam na defesa do organismo contra agentes infecciosos e envolvidas em sistemas de sinalização celular. Já em níveis elevados, elas produzem dano celular conhecido como estresse oxidativo (VALKO et al., 2007). Conforme a produção de espécies reativas extrapola a capacidade de remoção pelos antioxidantes endógenos, componentes biológicos como DNA, lipídeos, proteínas e outras moléculas sofrem alterações oxidativas por esses oxidantes resultando na alteração da célula e podendo, assim, gerar sua morte (ISCHIROPOULOS & BECKMAN, 2003).

Sabendo-se que o exercício físico é um gerador de ERONs, se praticado moderadamente pode diminuir os efeitos do estresse oxidativo provocado pelo exercício extenuante, presumivelmente devido à resposta adaptativa do organismo. Tal resultado sugere a regularidade do treinamento físico aeróbico como fator importante no combate às ERONs, diminuindo a possibilidade de ocorrer estresse oxidativo, podendo ser devido à modulação mais eficiente da atividade de enzimas antioxidantes. Ou seja, a prática de EFA moderada regularmente pode proporcionar efeitos benéficos e a diminuição da incidência de doenças e uma melhor qualidade de vida.

Neste cenário, o exercício físico regular tem capacidade de desenvolver uma compensação ao estresse oxidativo, aumentando a resistência a essa condição. Merece destaque o aumento dos níveis de ERONs e danos oxidativos como iniciadores de uma resposta adaptativa específica, como a ativação das enzimas antioxidantes e o reparo aos danos oxidativos. Independentemente do tipo de exercício físico realizado, submeter-se a treinos exaustivos ou exercícios intensos, prolongados, ou ainda, que possuem frequência de treinamento muito elevada estão expostos a lesões musculares graves e estresse oxidativo crônico, fatos que implicam em redução do volume de treinamento, prejuízo no desempenho. Entretanto, a maior indução do próprio estresse oxidativo, pode ser uma estratégia eficiente em aumentar

a quantidade endógena de antioxidantes (FINDEL e HOLBROOK, 2000), pois, gradativamente, aumentaria a resistência a lesões induzidas pelo exercício e estimularia os mecanismos antioxidantes celulares (HEATH et al., 1981; EBBELING e CLARKSON, 1989; CLARKSON e HUBAL, 2002).

Como o exercício resulta no aumento da formação de ERONs, por estar associando com o aumento da necessidade de ATP para a geração de energia. Estudos como o de Radák e colaboradores (2001), mostram que uma única sessão de exercício, dependendo da duração e intensidade pode causar aumento da atividade de enzimas antioxidantes e até mesmo resultar em danos oxidativos. O exercício físico regular parece diminuir a incidência de doenças associadas às ERONs, incluindo DCVs, DM tipo II, doenças de Alzheimer e Parkinson; e seu efeito preventivo, em parte, é devido à adaptação induzida por estresse oxidativo. O processo adaptativo não é provavelmente dependente apenas do nível de ERONs gerados, mas principalmente no aumento da atividade antioxidante. Além disso, tais efeitos parecem ser sistêmicos, e o músculo esquelético e o fígado têm funções metabólicas durante o exercício, e a resposta adaptativa é muito semelhante, devido às mudanças na homeostase redox (RADÁK et al., 2008; HIGASHIDA et al., 2011; RADÁK et al., 2013; VENDITTI et al., 2014; GOMEZ-CABRERA et al., 2015).

Na literatura é abundante relatos sobre a adaptação antioxidante do músculo ao treinamento físico crônico (JENKINS, 1988; MEYDANI e EVANS, 1993; JI, 1995; SEM, 1995; REID, 2001; BROOKS et al., 2008; HIGASHIDA et al., 2011; VENDITTI et al., 2014). Nestes estudos as conclusões gerais também demonstram a atividade da SOD. A atividade da SOD, consistentemente aumentada com o exercício dependente da intensidade (HIGUCHI et al, 1985; LEEWENBURGH, 1994; POWERS et al., 1994), sendo MnSOD o principal responsável pelo aumento observado na atividade desta enzima, enquanto a atividade da CuZnSOD é menos afetada (JI et al., 1988). As características da fibra muscular, tanto o recrutamento de fibras como a capacidade intrínseca da fibra são um fator importante que pode influenciar na atividade antioxidante (POWERS et al., 1994). No estudo de Higuchi e colaboradores (1985) ratos submetidos a um longo período de 3 meses de treinamento de corrida, foi verificado a atividade aumentada da SOD mitocondrial em fibras de contração rápida (37%) e contração lenta (14%), enquanto a atividade da SOD citosólica e CAT foi diminuída. Tratando-se de CAT, estudos ainda mostram que sua atividade é

inconsistente e controversa em resposta ao exercício físico (JENKINS, 1988; MEYDANI e EVANS, 1993).

Estudos mais recentes demonstram que protocolo de exercício agudo exaustivo induziu uma diminuição da atividade da SOD por causa do aumento da produção de EROs em tecidos, especialmente nos músculos esqueléticos, como afirmam Belviranlı e colaboradores (2012), que mostraram em seu estudo que animais suplementados com extrato de semente de uva submetidos ao exercício agudo exaustivo aumentaram o estresse oxidativo e, portanto, induziu a peroxidação lipídica. No mesmo estudo, animais treinados por 6 semanas em um protocolo de treinamento de corrida em esteira rolante é bom o suficiente para estimular a expressão e síntese da enzima antioxidante, promovendo aumento na atividade antioxidante. Neste sentido, comparando grupo treinado por 6 semanas (treinamento crônico) e grupo treinado por 30 m/min até a exaustão (treinamento agudo), a diferença nos resultados pode depender da diferença de métodos de análise e de intensidade e de duração do protocolo de treinamento. Vieira e colaboradores (2013), mostraram que ratos submetidos ao treinamento aeróbico de natação de 8 semanas, 1 vez/dia, após 1 semana adaptação, caracterizou-se por ser de intensidade moderada. Este estudo mostrou que apesar de o EFA ser um gerador de EROs, o estímulo parece ser compensatório ao diminuir a peroxidação lipídica, bem como aumentar a atividade da enzima antioxidante CAT e diminuir a atividade da SOD que foram encontrados valores significativamente superiores no grupo treinado comparado ao sedentário, especificamente no músculo gastrocnêmio. O que corrobora o estudo com humanos submetidos ao treinamento monitorado e supervisionado por 6 semanas, o qual mostrou melhora na capacidade antioxidante (ELEUTÉRIO-SILVA et al., 2013).

Conforme colocado, a SOD, como uma das principais enzimas antioxidantes, está na primeira linha do sistema de defesa antioxidante contra EROs durante o estresse oxidativo. No entanto, têm muitos estudos conflitantes relacionados à mudança desta enzima em resposta ao exercício agudo. A SOD é uma enzima antioxidante endógena, e como é relatado, ratos tem atividade enzimática aumentada (NAVARRO-ARÉVALO, 1998), diminuída (OZTASAN, 2004), ou sem mudança (HOLLANDER, 2001), após exercício agudo. Sun e colaboradores (2016), submeteram camundongos C57BL/6 ao exercício agudo de natação em tempos de 0h, 2h, 6h, 12h, 24h e 48h. Como resultado, mostraram a atividade da SOD total no músculo gastrocnêmio significativamente diminuída desde 6h a 48h após o exercício.

O que pode estar em consonância com a concentração de MDA diminuída, sugerindo que a capacidade antioxidante destes animais pode ser atenuada após o exercício, possivelmente devido à baixa intensidade do exercício de natação implementado.

Nos gráficos 6 B e C, vemos a atividade da SOD e CAT, respectivamente, a primeira mostrou atividade diminuída em ambos grupos treinados, enquanto a CAT não mostrou diferença entre os grupos. Esta análise mostra o que é discutido na literatura, existem resultados controversos, necessitando de mais estudos para investigar se a atividade é tecido-dependente ou tempo-dependente, visto que nos gráficos 4 B e 5 B, a atividade da CAT está aumentada nos grupos treinados de 8 semanas. Atividade mensurada no plasma e no fígado. Já no músculo (gráfico 6) não houve diferença na atividade da CAT. Assim, em termos de resposta ao treinamento físico, nossos resultados sugerem que pode haver adaptação da defesa antioxidante contra os danos dos ERONs, considerando como boa opção um protocolo longo e não exaustivo (8 semanas com 1 sessão diária de treino).

No presente estudo os resultados sugerem que o treinamento aeróbico mais intenso e com menor duração (2 vezes por dia durante 4 semanas) causa efeitos diretos na melhora do perfil metabólico glicêmico e lipídico, incluindo a diminuição de peroxidação lipídica sistêmica. Entretanto, quando praticado com maior duração e menor intensidade (1 vez por dia durante 8 semanas), o efeito se estende aos tecidos hepático e muscular promovendo melhora no perfil redox, seja por diminuir as espécies reativas seja por aumentar as defesas antioxidantes. Desta forma, este último promove uma resposta adaptativa capaz de proteger os animais do estresse oxidativo e, possivelmente, da gênese e/ou manutenção de várias doenças metabólicas.

## 7. CONCLUSÃO

Em conjunto, os resultados apresentados relacionados com diferentes variáveis de protocolos de treinamento físico (duração, frequência e intensidade, sugerem que a duração e a frequência do exercício físico aeróbico promovem efeitos para a melhora no metabolismo glicêmico e lipídico, como também modulam com mais eficiência a defesa antioxidante. Os efeitos positivos no metabolismo glicêmico e lipídico foram promovidos pelo protocolo de natação de 4 semanas, enquanto a modulação da defesa antioxidante foi efetiva no protocolo de natação de 8 semanas, sugerindo que estas alterações podem ser dependentes de duração e frequência de treinamento físico.



## 8. PERSPECTIVAS

Baseado no modelo animal obtido, bem como nos achados deste trabalho, tem-se várias frentes como perspectivas para continuação do mesmo, a citar:

- Investigação de pontos chaves das vias glicêmicas e lipídicas: GLUT-4, insulina e lipólise;
- Determinação de possíveis alterações cardíacas e no músculo esquelético induzidas pelo treinamento físico;
- Finalizar a investigação de vias redox, sobretudo acerca de ERONs e os marcadores de estresse oxidativo de forma complementar para elucidar as questões ainda não respondidas. Além disso, determinar a participação da arginase em outros *locus* e das isoformas da NOS na modulação da síntese de  $\cdot\text{NO}$  em resposta ao exercício físico.

## 9. LIMITAÇÕES DO ESTUDO

Durante a realização de nosso estudo não foi possível avaliar a intensidade do treinamento físico dos animais. Para tanto, seria necessário mensurar o consumo de oxigênio durante a execução dos dois protocolos de natação. Dessa forma, não é possível afirmar qual o nível de desgaste metabólico imprimido por cada um dos protocolos utilizados.

Além disso, os testes metabólicos (tolerância à glicose, resistência à insulina e gliconeogênese), experimentos importantes para responder questionamentos sobre o metabolismo glicêmico, não puderam ser executados.

## REFERÊNCIAS

- ACHTEN, J.; JEUKENDRUP, A.E. Maximal fat oxidation during exercise in trained men. *International Journal of Sports Medicine*, v.24, p. 603-608, 2003.
- ALESSIO, H. M.; GOLDFARB, A. H. Lipid Peroxidation and scavenger enzymes during exercise: adaptative response to training. *Journal of Applied Physiology*, n. 64, p.1333-1336, 1998.
- ALLEN, D.L.; HARRISON, B.C.; MAASS, A.; BELL, M.L.; BYRNES, W.C.; LEINWAND, L.A. Cardiac and skeletal muscle adaptations to voluntary wheel running in the mouse. *J Appl Physiol*, v.90, n.5, p.1900-1908, 2001.
- AMERICAN COLLEGE OF SPORTS MEDICINE et al. **ACSM's guidelines for exercise testing and prescription**. Lippincott Williams & Wilkins, 2013.
- AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Standards of medical Care in Diabetes. *Diabetes Care*. v. 32, 2010.
- ANDRADE, L.S.; MARREIRO, D.N. Aspectos sobre a relação entre exercício físico, estresse oxidativo e zinco. *Rev. Nutr. Campinas*, v.24, n.4, p. 629-640, 2011.
- ANDREW, P. J.; MAYER, B. Enzymatic function of nitric oxide synthases. *Cardiovascular Research*, v. 43, n. 3, p. 521–31, 15 ago. 1999
- ANSTEE Q. M.; GOLDIN R. D. Mouse models in non-alcoholic fatty liver disease and steatohepatitis research. *Int. J. Exp. Pathol*, v.87, p.1-16, 2006.
- ANTUNES, H.K.M.; SANTOS, R.F.; CASSILHAS, R.; SANTOS, R V.T.; BUENO, O.F.A.; MELLO, M.T. Exercício físico e função cognitiva: uma revisão. *Revista Brasileira de Medicina do Esporte*, v.12, n.2, mar/abr, 2006.
- ARANTES, L. M.; BERTOLINIA, N. O.; MOURA, R. F.; MELLO, M. A. R.; LUCIANO, E. Insulin concentrations in cerebellum and body balance in diabetic male rats: Aerobic training effects. *Physiology & Behavior*, v. 118, p. 58–62, 2013.
- ARAUJO, G.G.; PAPOTI, M.; MANCHADO, F.B.; MELLO, M.A.R.; GOBATTO, C.A. Protocols for hyperlactatemia induction in the lactate minimum test adapted to swimming rats. *Comparative Biochemistry Physiology. Part A: Molecular & Integrative Physiology*, v. 148, p. 888-92, 2007.
- ARAUJO, G.G.; PAPOTI, M.; MANCHADO-GOBATTO, F.B.; MELLO, M.A.R.; GOBATTO, C.A. Padronização de um protocolo experimental de treinamento periodizado em natação utilizando ratos Wistar. *Rev Bras Med Esporte*, Niterói, v. 16, n. 1, p. 51-56, Feb. 2010.
- ARNER, P.; KRIEGHOLM, E.; ENGFELDT, P.; BOLINDER, J. Adrenergic Regulation of Lipolysis In Situ at Rest and during Exercise. *The Journal of Clinical Investigation*, v. 85, p. 893-898, 1990.

- ASH, D. E. Structure and function of arginases. *The Journal of Nutrition*, v. 134, p. 2760– 2764, out. 2004.
- BACKER, J.M.; MYERS, M.G.JR.; SHOELSON, S.E.; CHIN, D.J.; SUN, X.J.; MIRALPEIX, M.; et al. Phosphatidylinositol 3'-kinase is activated by association with IRS-1 during insulin stimulation. *EMBO J.*;11(9):3469-79, 1992.
- BAE, J.Y.; SHIN, K.O.; WOO, J.; WOO, S.H.; JANG, K.S.; LEE, Y.H.; KANG, S. Exercise and dietary change ameliorate high fat diet induced obesity and insulin resistance via mTOR signaling pathway. *J Exerc Nutrition Biochem.*, v.20, n.2, p.28-33, 2016.
- BAKER, M.K.; ATLANTIS, E.; FIATARONE SINGH, M.A. Multi-modal exercise programs for older adults. *Age and ageing*;36:375-81, 2007.
- BALON, T.W.; NADLER, J.L. Nitric oxide release is present from incubated skeletal muscle preparations. *J Appl Physiol.*; 77, 2519–2521, 1994.
- BANSAL, V.; OCHOA, J. B. Arginine availability, arginase, and the immune response. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, v. 6, n. 2, p. 223–8, mar. 2003.
- BARBANTI, V. J. **Dicionário de educação física e do esporte**. São Paulo, Manole, 1994.
- BARROS, M. V. G.; NAHAS, M. Vinicius. **Medidas da atividade física: teoria de aplicação de diversos grupos**. Londrina: Midiofrati, 2003.
- BARTLETT, K.; EATON, S. Mitochondrial beta-oxidation. *Eur. J. Biochem*, 271, 462–469, 2004.
- BATACAN Jr, R.B.; DUNCAN, M.J.; DALBO, V.J.; CONNOLLY, K.J.; Fenning, A.S. Light-intensity and high-intensity interval training improve cardiometabolic health in rats. *Appl Physiol Nutr Metab.*, v.4, p.1-8. 2016
- BAYIR, H.; KAGAN, V. Review Bench-to-bedside review: Mitochondrial injury, oxidative stress and apoptosis – there is nothing more practical than a good theory. *Critical Care*. v.12, p.206, 2008.
- BEAGLEHOLE, R.; BONITA, R. Global public health: a scorecard. *Lancet*, n. 372, p.1988-96, 2008.
- BECKMAN JS, BECKMAN T, FREEMAN B. Apparent hydroxyl radical production by peroxynitrite: implications for endotelial injury from nitric oxide and superoxide. *Proc. Natl. Acad. Scie.* USA 1990; 87: 1620-1624.

BELVIRANLI, M.; GÖKBEL, H.; OKUDAN, N.; BASARALI, K. Effects of grape seed extract supplementation on exercise-induced oxidative stress in rats. **British Journal of Nutrition.**, v.108, p.249-256, 2012.

BERGAMO, F. C. **Influência do gene da enzima conversora de angiotensina sobre as respostas metabólicas induzida pelo treinamento físico aeróbio em camundongos diabéticos.** 2011. Dissertação (Mestrado em Biodinâmica do Movimento Humano) - Escola de Educação Física e Esporte, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011. doi:10.11606/D.39.2011.tde-25052012-102959. Acesso em: 2016-06-18.

BERMUDES, A.M.L.M.; VASSALO, D.V.; VASQUEZ, E.C.; LIMA, E.G. Monitorização ambulatorial da pressão arterial em indivíduos normotensos submetidos a duas sessões únicas de exercícios: resistido e aeróbico. **Arq. Bras. Cardiol.**, 82 (1): 57-64, 2004.

BERNARDO, B.C.; WEEKS, K.L.; PRETORIUS, L.; MCMULLEN, J.R. Molecular distinction between physiological and pathological cardiac hypertrophy: experimental findings and therapeutic strategies. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 128, p.191-227, 2010.

BERTHON, P.M.; HOWLETT, R.A.; HEIGENHAUSER, G.J.; SPRIET, L.L. Human skeletal muscle carnitine palmitoyltransferase I activity determined in isolated intact mitochondria. **J Appl Physiol.**;85:148–153, 1998.

BERTOLAMI M. C.; BERTOLAMI V. A. hipercolesterolemia e as demais hiperlipidemias. **Revista Brasileira de Medicina**, v. 43, p.112-121, 1986

BJORNTORP, P.; DE JOUNGE, K.; SJOSTROM, L.; SULLIVAN, L. The effect of physical training on insulin production in obesity. **Metabolism** 19:631-638. 1970.

BLAIR, S.N.; LAMONTE, M.J.; NICHAMAN, M.Z. The evolution of physical activity recommendations: how much is enough? **The American journal of clinical nutrition**, v. 79, n. 5, p. 913S-920S, 2004.

BLOOMER, R. J. Chapter 1 effect of exercise on oxidative stress biomarkers. **Advances in Clinical Chemistry**, v. 46, p. 1-50, 2008.

BONNEFONT, J.P.; DJOUADI, F.; PRIP-BUUS, C.; GOBIN, S.; MUNNICH, A.; BASTIN, J. Carnitine palmitoyltransferases 1 and 2: biochemical, molecular and medical aspects. **Mol. Aspects Med.** 25, 495–520, 2004.

BOUCHER, J. L.; MOALI, C.; TENU, J. P. Nitric oxide biosynthesis, nitric oxide synthase inhibitors and arginase competition for L-arginine utilization. **Cellular and Molecular Life Sciences: CMLS**, v. 55, n. 8-9, p. 1015–28, jul. 1999.

BRAY G.A. Diet and exercise for weight loss. **JAMA**, v.307, p. 2641, 2012.

BROOKS, S.V.; VASILAKI, A.; LARKIN, L.M.; MCARDLE, A.; JACKSON, M.J. Repeated bouts of aerobic exercise lead to reductions in skeletal muscle free radical generation and nuclear factor kappaB activation. *J Physiol.*, v.586, p.3979-3990, 2008.

BURN, J.H.; DALE, H. On the location of action of insulin. *Journal of Physiology* 59: 164-192. 1924.

BURNEIKO, R. C. M.; DINIZ, Y. S.; GALHARDI, C. M.; RODRIGUES, H. G.; EBAID, G. M. X.; FAINE, L. A.; PADOVANI, C. R.; CICOGNA, A. C.; NOVELLI E. L. B. Interaction of hypercaloric diet and physical exercise on lipid profile, oxidative stress and antioxidant defenses. *Food and Chemical Toxicology*, v.44, p.1167-1172, 2006.

BUTTLER, D. Un targets top killers. *Nature*, v.477, p.260-1, 2011.

BUZELLE, S.L. **Alterações do metabolismo lipídico no tecido adiposo epididimal de ratos em crescimento submetidos à restrição protéica.** 2010. 82f. Dissertação (Mestrado) Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Universidade Federal de Mato Grosso, Cuiabá, 2010.

CADENAS, E.; DAVIES, K.J.A. Mitochondrial free radical generation, oxidative stress, and aging. *Free Radic Biol Méd.* v.29, p.222–230, 2000.

CAMBRI, L.T.; SOUZA, M.; MANNRICH, G.; CRUZ, R.O.; GEVAERD, M.S. Perfil Lipídico, Dislipidemias e Exercícios Físicos. *Revista Brasileira de Cineantropometria & Desempenho Humano.* v.8, n.3, p.100-106, 2006.

CANEVALI JR. L. C.; LIMA, W. P.; ZANUTO. R. **Exercício, Emagrecimento e Intensidade do treinamento: Aspectos Fisiológicos e Metodológicos.** São Paulo. Phorte. 2011.

CARDIOLOGIA, S. B. D.; HIPERTENSÃO, S. B. D.; NEFROLOGIA, S. B. D. VI DIRETRIZES BRASILEIRAS DE HIPERTENSÃO. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, v.95, Suplemento 1, p.1-68, 2010.

CARDOSO, A.M.; MARTINS, C.C.; FIORIN, F.D.A.S.; et al.; Physical training prevents oxidative stress in L-NAME-induced hypertension rats. *Cell Biochem Funct.*, v.31, n.2, p.136-51, 2013.

CASPERSEN, C.J.; POWELL, K.E.; CHRISTENSON, G.M. Physical activity, exercise, and physical fitness: Definitions and distinctions for health-related research. *Public Health Rep.* 1985;100:126–31.

CERQUEIRA, N. F. & YOSHIDA, W. B. Óxido nítrico: revisão. *Acta Cir Bras* [serial online] Nov-Dez;17(6), 2002.

CHATURVEDI, R. et al. Polyamines Impair Immunity to Helicobacter pylori by Inhibiting L-Arginine Uptake Required for Nitric Oxide Production. **Gastroenterology**, v. 139, n. 5, p. 1686–1698, nov. 2010

CHODZKO-ZAJKO, W.J.; PROCTOR, D.N.; FIATARONE SINGH, M.A.; MINSON, C.T.; NIGG, C.R.; SALEM, G.J et al. American College of Sports Medicine position stand. Exercise and physical activity for older adults. **Med Sci Sports Exerc.**;41: 1510–30, 2009.

CHOI, E-Y.; CHO, Y-O. The influence of different durations of aerobic exercise on fuel utilization, lactate level and antioxidant defense system in trained rats. **Nutr Res Pract.**, v.8, n.1, p.27-32, 2014.

CHUDYK, A.; PETRELLA, R.J. Effects of exercise on cardiovascular risk factors in type 2 diabetes: a meta-analysis. **Diabetes care**, v.34, n.5, p.1228-37, 2011.

CIOLAC, E.G.; GUIMARÃES, G.V. Exercício Físico e Síndrome Metabólica. **Rev. Brasileira de Medicina do Esporte**, v.10, n. 4, p.319 – 324, 2004.

CLARKSON, P.M.; HUBAL, M.J. Exercise-induced muscle damage in humans. **Am J Phys Med Rehabil**, v.81, p.S52-69, 2002.

CODOÑER-FRANCH, P. et al. Polyamines are increased in obese children and are related to markers of oxidative/nitrosative stress and angiogenesis. **The Journal of clinical endocrinology and metabolism**, v. 96, n. 9, p. 2821–5, set. 2011

CONG, W.N.; TAO, R.; TIAN, J.Y.; LIU, G.T.; YE, F. The establishment of a novel nonalcoholic steatohepatitis model accompanied with obesity and insulin resistance in mice. **Life Sciences**, v.82, p.983-990, 2008.

COOPER, C.E.; VOLLAARD, N.B.J.; CHOUERI, T.; WILSON, M.T. Exercise, free radicals and oxidative stress. **Biochemical Society Transactions**, v. 30, n. 2, p.280-285, 2002.

COSTANZO, L.D., et al. Inhibition of human arginase I by substrate and product analogues. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 496, n. 2, p. 101–108, fev. 2010.

COX, K.L.; BURKE, V.; BEILIN, L.J.; PUDDEY, I.B. A comparison of the effects of swimming and walking on body weight, fat distribution, lipids, glucose, and insulin in older women-the Sedentary Women Exercise Adherence Trial 2. **Metabolism** v.59, p.1562–1573, 2010.

CZECH, M.P.; CORVERA, S. Signaling mechanisms that regulate glucose transport. **J Biol Chem.**;274(4):1865-8, 1999.

DA LUZ, P.; FAVARATO, D.; FARIA-NETO, J.J.; LEMOS, P.; CHAGAS, A.C.P. High ratio of triglycerides to HDL-cholesterol predicts extensive coronary disease. **Clinics**, Sao Paulo, v.63, n.4, p.427-432, 2008.

DÂMASO, A. **Nutrição e Exercício na Prevenção de Doenças**. Rio de Janeiro: Medsi, 2001.

DAVIES, K.J.; QUINTANILHA, A.T.; BROOKS, G.A.; PACKER, L. Free radicals and tissue damage produced by exercise. **Biochem Biophys Res Commun** 107: 1198–1205, 1982.

DAVIS, B.; MORIGUCHI, T.; SUMPIO, B. Optimizing Cardiovascular Benefits of Exercise: A Review of Rodent Models. **The International Journal of Angiology : Official Publication of the International College of Angiology, Inc.** 2013;22(1):13-22.

DE ANGELIS, K.L.D.; OLIVEIRA, A.R.; DALL'AGO, P.; PEIXOTO, L.R.A.; GADONSKI, G.; LACCHINI, S.; FERNANDES, T.G.; IRIGOYEN, M.C. Effects of exercise training on autonomic and myocardial dysfunction in streptozotocin-diabetic rats. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.33, n.6, p.635-641, 2000.

DE ARAUJO, G. G.; PAPOTI, M.; DOS REIS, I. G.; DE MELLO, M. A.; GOBATTO, C. A. Physiological responses during linear periodized training in rats. **Eur J Appl Physiol**, v. 112, n. 3, p. 839-52, Mar 2012.

DELARUE, J.; MAGNAN, C. Free fatty acids and insulin resistance. **Curr Opin Clin Nutr Metab Care**, v.10, n.2, p.142-8, 2007.

DEMOUGEOT, C.; TESSIER, A.P.; BAGNOST, T.; ANDRÉ, C.; GUILLAUME, Y.; BOUHADDI, M.; MARIE, C.; BERTHELOT, A. Time course of vascular arginase expression and activity in spontaneously hypertensive rats. **Life Sciences**, v.80, p.1128-1134, 2007.

DEFRONZO, R. A. Pathogenesis of type 2 diabetes. **Medical Clinics**, Volume 88, Issue 4, 787 – 835, 2004.

DE OLIVEIRA, V. N.; BESSA, A.; JORGE, M. L.; OLIVEIRA, R. J.; DE MELLO, M. T.; DE AGOSTINI, G. G.; JORGE, P. T.; ESPINDOLA, F. S. The effect of different training programs on antioxidant status, oxidative stress, and metabolic control in type 2 diabetes. **Appl Physiol Nutr Metab**. Apr;37(2):334-44, 2012.

DERESZ, L.F.; LAZZAROTTO, A.R.; MANFROI, W.C.; GAYA, A.; SPRINZ, E.; OLIVEIRA A.R.; DALL'AGO, P. O Estresse Oxidativo e o Exercício Físico em Indivíduos HIV Positivos. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 13, n. 4, p. 275-279, 2007.



- DI FRANCESCO MARINO, S.; SCIARTILLI, A.; DI VALERIO, V.; DI BALDASSARRE, A.; GALLINA, S. The effect of physical exercise on endothelial function. **Sports Med**, v.39, n.10, p.797-812, 2009.
- DIAS, R. G.; NEGRÃO, C. E.; KRIEGER, M. H. Óxido Nítrico e Sistema Cardiovascular: Ativação Celular, Reatividade Vascular e Variante Genética. **InCor**, Unicamp, 2011.
- DIAZ, M. M.; BOCANEGRA, O. L.; TEIXEIRA, R. R.; SOARES, S. S.; ESPINDOLA, F. S. Salivary nitric oxide and alpha-amylase as indexes of training intensity and load. **Int. J. Sports Med**. Jan; 34(1):8-13, 2013.
- DILLARD, C.J.; LITOV, R.E.; SAVIN, W.M.; DUMELIN, E.E.; TAPPEL, A.L. Effects of exercise, vitamin E, and ozone on pulmonary function and lipid peroxidation. **J Appl Physiol**; 45, 927–932, 1978.
- DOMANSKI, M.; LLOYD-JONES, D.; FUSTER, V.; GRUNDY, S. Can we dramatically reduce the incidence of coronary heart disease?. **Nat Rev Cardiol**, v.8, p.721-725, 2011.
- DOTZERT, M.S.; MURRAY, M.R.; MCDONALD, M.W.; OLVER, T.D.; VELENOSI, T.J.; HENNOP, A.; NOBLE, E.G.; URQUHART, B.L.; MELLING, C.W. Metabolomic Response of Skeletal Muscle to Aerobic Exercise Training in Insulin Resistant Type 1 Diabetic Rats. **Sci Rep.**, v.20, 6:26379, 2016.
- DRÖDGE, W. Free radicals in the physiological control of cell function. **Physiological Reviews**. v.82. p.47-95, 2002.
- DURANTE, W.; JOHNSON, F. K.; JOHNSON, R. A. Arginase: a critical regulation of nitric oxide synthesis and vascular function. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, v. 34, n. 9, p. 906–911, set. 2007.
- DU, T.; YUAN, G.; ZHANG, M.; ZHOU, X.; SUN, X.; YU, X. Clinical usefulness of lipid ratios, visceral adiposity indicators, and the triglycerides and glucose index as risk markers of insulin resistance. **Cardiovasc. Diabetol.**, 13, 146, 2014.
- EBBELING, C.B.; CLARKSON, P.M. Exercise-induced muscle damage and adaptation. **Sports Med**, v.7, p.207-34, 1989.
- ERIKSSON, J.; TAIMELA, S.; KOIVISTO, V.A. Exercise and the metabolic syndrome. **Diabetologia**;40:125–35. 29, 1997.
- ESSIG, D.A.; NOSEK, T.M. Muscle Fatigue and Induction of Stress Protein Genes: A dual Function of Reactive Oxygen Species. **Can. J. Appl. Physiol**. 22 (5): 409-428, 1997.
- EVANGELISTA, F.S.; BRUM, P.C.; KRIEGER, J.E. Duration-controlled swimming exercise training induces cardiac hypertrophy in mice. **Braz J Med Biol Res**, Ribeirão Preto , v. 36, n. 12, p. 1751-1759, Dec. 2003

EVANGELISTA, F.S.; KRIEGER, J.E. Small gene effect and exercise training-induced cardiac hypertrophy in mice: an Ace gene dosage study. *Physiol Genomics* 27: 231–236, 2006

ELEUTÉRIO-SILVA, M.A.; FONSECA, L.J.S.; VELLOSO, E.P.; GUEDES, G.S.; SAMPAIO, W.O.; SILVA, W.F.; MOTA-GOMES, M.A.; LIMA, L.V.S.; SANTOS, R.A.; RABELO, L.A. Short-term cardiovascular physical programme ameliorates arterial stiffness and decreases oxidative stress in women with metabolic syndrome. *J Rehabil Med.*, v.45, n.6, p.572-9, 2013.

FERNANDES, T.; SOCI, U.P.R.; OLIVEIRA, E.M. Hipertrofia cardíaca excêntrica e concêntrica induzida pelo exercício físico: MicroRNAs e determinantes moleculares. *Braz J Med Biol Res*, Ribeirão Preto, v.44, n. 9, 2011.

FERNANDES, T.; HASHIMOTO, N.Y.; MAGALHÃES, F.C.; FERNANDES, F.B.; CASARINI, D.E.; CARMONA, A.K.; KRIEGER, J.E.; PHILLIPS, M.I.; OLIVEIRA, E.M. Aerobic exercise training-induced left ventricular hypertrophy involves regulatory MicroRNAs, decreased angiotensin-converting enzyme-angiotensin ii, and synergistic regulation of angiotensin-converting enzyme 2-angiotensin (1-7). *Hypertension*, v.58, p.182-9, 2011.

FERREIRA, J.C.B.; ROLIM, N.P.L.; BATHOLOMEU, J.B.; GOBATTO, C.A.; KOKUBUN, E.; BRUM, P.C. Maximal lactate steady state in running mice: effects of exercise training. *Clinical Experimental Pharmacology and Physiology*, v. 34, n.8, p.760-765, 2007.

FERREIRA, L.F.; REID, M.B. Muscle-derived ROS and Thiol Regulation in Muscle Fatigue. *Journal of Applied Physiology*, p. 853-860, 2008.

FINAUD, J.; LAC, G.; FILAIRE, E. Oxidative stress: relationship with exercise and training. *Sports Med*, v.36, p.327-58, 2006.

FINKEL, T.; HOLBROOK, N.J. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature*, v.408, p.239-47, 2000.

FISHER-WELLMAN, K.; BLOOMER, R. J. Acute exercise and oxidative stress: a 30 year history. *Dynamic Medicine*, v.8, n.1, p.1-25, 2009.

FITZGERALD, S.M.; KEMP-HARPER, B.K.; PARKINGTON, H.C.; HEAD, G.A.; EVANS, R.G. Endothelial dysfunction and arterial pressure regulation during early diabetes in mice: roles for nitric oxide and endothelium-derived hyperpolarization factor. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, v.293, p.707-713, 2007.

FLORINDO A.A.; GUIMARAES, V.V.; CESAR, C.L, et al. Epidemiology of leisure, transportation, occupational, and household physical activity: prevalence and associated factors. *J Phys Act Health.*;6:625-32, 2009.

FONSECA, L.J.S.D.; NUNES-SOUZA, V.; GUEDES, G. D S.; SCHETTINO-SILVA, G.; MOTA-GOMES, M.A.; RABELO, L.A. Oxidative status imbalance in patients with

metabolic syndrome: role of the myeloperoxidase/hydrogen peroxide axis. ***Oxidative Med. Cell. Longev.***, v.15, p. 1–14, 2014.

FOX, E.; BOWERS, R. W.; FOSS, M. **Bases fisiológicas da educação física e do desporto**. 4ªedição. Rio de Janeiro. Editora Guanabara, 1991.

FRANZ, I,W.; LOHMANN, F.W.; KOCH, G.; QUABBE, H.J. Aspects of hormonal regulation of lipolysis during exercise: effects of chronic  $\beta$ -receptor blockade. ***Int J Sports Med***;4:14-20. 5. Bonen A, Luiken, 1983.

FRAYN, K.N.; WILLIAMS, C.M.; ARNER, P. Are increased plasma non-esterified fatty acid concentrations a risk marker for coronary heart disease and other chronic diseases? ***Clin Sci***, v.90, p.243-253, 1996.

FRIEDEWALD, W.T.; LEVI, R.I.; FREDRICKSON, D.S. Estimation of the concentration of low density lipoproteins cholesterol in plasma without use of the ultracentrifuge. ***Clinical Chemistry***, v.18, p.499-502, 1972.

FURCHGOTT, R. Endothelium-derived relaxing factor: discovery, early studies, and identification as nitric oxide. ***Bioscience Reports***, v. 19, n. 4, p. 235–251, ago. 1999.

FURCHGOTT, R.; ZAWADZKI, J. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. ***Nature***, v. 288, p. 373–376, nov. 1980

FROBERG, S.O. Effects of training and of acute exercise in trained rats. ***Metabolism***, v.20, n.11, p.1044-51, 1971.

GARBER, C.E.; BLISSMER, B.; DESCHENES, M.R.; FRANKLIN, B.A.; LAMONTE, M.J.; LEE, I.M, et al. Quantity and quality of exercise for developing and maintaining cardiorespiratory, musculoskeletal, and neuromotor fitness in apparently healthy adults: Guidance for prescribing exercise. ***Med Sci Sports Exerc.***;43:1334–59, 2011.

GHISI, G. L. M.; DURIEUX, A.; PINHO, R.; BENETTI, M. Exercício físico e disfunção endotelial. ***Arq. Bras. Cardiol.***, São Paulo, v.95, n.5, 2010.

GHIASI, R.; SOUFI, F.G.; SOMI, M.H.; MOHADDES, G.; MIRZAIE, F.M.; NADERI, R.; ALIPOUR M.R. Swim Training Improves HOMA-IR in Type 2 Diabetes Induced by High Fat Diet and Low Dose of Streptozotocin in Male Rats. ***Adv Pharm Bull.***, V.5, n.3,p.379-84, 2015.

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

GOLDFARB, A.H.; BLOOMER, R.; MCKENZIE, M.J. Effect of microhydrin on blood lactate, protein carbonyls, and glutathione status in rats before and after aerobic exercise. *Int J Sport Nutr Exerc Metab.*;14:550–559, 2004.

GOLDBERG, I.R.A J.; ROBERT H. E.; NADA A. A. Regulation of Fatty Acid Uptake into Tissues: Lipoprotein Lipase- and CD36-Mediated Pathways. *Journal of Lipid Research* 50.Suppl: S86–S90. 17 July 2016, 2009.

GOLLISCH, K.S.C.; BRANDAUER, J.; JESSEN, N. et al. Effects of exercise training on subcutaneous and visceral adipose tissue in normal- and high-fat diet-fed rats. *American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism.*;297(2):E495-E504, 2009.

GOMEZ-CABRERA, M.C.; BORRAS, C.; PALLARDO, F.V.; SASTRE, J.; JI, L.L.; VINA, J. Decreasing xanthine oxidase-mediated oxidative stress prevents useful cellular adaptations to exercise in rats. *J Physiol.*, v.567, p.113-120, 2005.

GOMEZ-CABRERA, M.C.; DOMENECH, E.; VINA, J. Moderate exercise is an antioxidant: upregulation of antioxidant genes by training. *Free Radic Biol Med.*, v.44, n.2, p.126-131, 2008.

GOMEZ-CABRERA, M.C.; SALVADOR-PASCUAL, A.; CABO, H.; FERRANDO, B.; VIÑA, J. Redox modulation of mitochondriogenesis in exercise. Does antioxidant supplementation blunt the benefits of exercise training? *Free Radic Biol Med.*, v.86 p.37-46, 2015.

HALL, K.E.; MCDONALD, M.W.; GRISÉ, K.N.; CAMPOS, A.O.; NOBLE, E.G.; MELLING, C.W. The role of resistance and aerobic exercise training on insulin sensitivity measures in STZ-induced Type 1 diabetic rodents. *Metabolism.*, v.62, n. 10, p.1485-94, 2013.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J.M.C. Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview. *Methods Enzymol* ; 186: 1-85, 1990.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J.M.C. **Free Radical in Biology Medicine.** University Press, Oxford, NY, 1999.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE J. M. C. *Free Radical in Biology and Medicine.* 4. ed. Oxford: Oxford University Press, p.851, 2007.

HAMBURG, N.M.; MCMACKIN, C.J.; HUANG, A.L.; SHENOUDA, S.M.; WIDLANSKY, M.E.; SCHULZ, E.; GOKCE, N.; RUDERMAN, N.B.; KEANEY, J.F JR.; VITA, J.A. Physical inactivity rapidly induces insulin resistance and microvascular dysfunction in healthy volunteers. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.*, v.27, n.12, p.2650-6, 2007.

HARDIE, D.G. AMP-activated protein kinase—an energy sensor that regulates all aspects of cell function. *Genes & Development.*;25(18):1895-1908. 2011.

HARRY, M.; KUUSELA, P. Is swimming exercise or cold exposure for rats? *Acta Physiologica Scandinavica*, Stockholm, v.126, p.189-97, 1986.

HASKELL, W.L.; LEE, I.M.; PATE, R.R.; POWELL, K.E.; BLAIR, S.N.; FRANKLIN BA.; MACERA, C.A.; HEATH, G.W.; THOMPSON, P.D.; BAUMAN, A. Physical activity and public health: updated recommendation for adults from the American College of Sport Medicine and the American Heart Association. *Med Sci Sport Exerc.*, v.3, n.2, p.423-34, 2007.

HASKELL, W.L. Evolution of physical activity recommendations. In: Lee I, editor. *Epidemiologic methods in physical activity studies*. Oxford, New York: Oxford University Press, p. 283-301, 2009.

HEATH, G.W.; HAGBERG, J.M.; EHSANI, A.A.; HOLLOSZY, J.O. A physiological comparison of young and older endurance athletes. *J Appl Physiol.*, v.51, p.634-40, 1981.

HEISS, C.; LAUER, T.; DEJAM, A.; KLEINBONGARD, P.; HAMADA, S.; RASSAF, T.; MATERN, S.; FEELISCH, M.; KELM, M. Plasma nitroso compounds are decreased in patients with endothelial dysfunction. *J. Am. Coll. Cardiol.*, v.47, n.3, p.573-579, 2006.

HELGE JW, KIENS B. Muscle enzyme activity in man: role of substrate availability and training. *American Journal of Physiology* ;272:R1620–1624, 1997.

HIRAI, D. M.; COPP, S. W.; FERGUSON, S. K.; HOLDSWORTH, C. T.; Mc CULLOUGH, D. J.; BEHNKE, B. J.; MUSCH, T. I.; POOLE, D. C. Exercise training and muscle microvascular oxygenation: functional role of nitric oxide. *Journal Appl Physiol.* 2012.

HIGASHIDA, K.; KIM, S.H.; HIGUCHI, M.; HOLLOSZY, J.O.; HAN, D.H. Normal adaptations to exercise despite protection against oxidative stress. *Am J Physiol Endocrinol Metab.*, v.301, n.5, p.E779–84, 2011.

HIGUCHI, M.; CARTIER, L.J.; CHEN, M.; HOLLUSZY, J. O. Superoxide dismutase and catalase in skeletal muscle: Adaptive response to exercise. *J. Gerontol.*, v.40, p.281-286, 1985.

HODGETTS, V.; COPPACK, S.W.; FRAYN, K.N.; HOCKADAY, T.D.R. Factors controlling fat mobilization from human subcutaneous adipose tissue during exercise. *J Appl Physiol.*, v.71, p.445-451, 1991.

HOLMES, B.F.; KURTH-KRACZEK, E.J.; WINDER, W.W. Chronic activation of 5'-AMP-activated protein kinase increases GLUT-4, hexokinase, and glycogen in muscle. *J Appl Physiol*, v.87, v.5, p.1990-5, 1999.

HOLLANDER, J.; FIEBIG, R.; GORE, M.; OOKAWARA, T.; OHNO, H.; JI, L. Superoxide dismutase gene expression is activated by a single bout of exercise in rat skeletal muscle. *Pflugers Archiv.*, v.442, n.3, p.426-434, 2001.

HOROWITZ, J.F. Fatty acid mobilization from adipose tissue during exercise. ***Trends Endocrinol Metabol.***, v.14, p.386-392, 2003.

HOWARD, J. K.; FLIER, J. K. Attenuation of leptin and insulin signaling by SOCS proteins. ***Trends in Endocrinology & Metabolism*** , Volume 17 , Issue 9 , 365 – 371, 2006.

HÜNNING, G. P. **Sinalização autofágica e níveis de miostatina em modelo de hipertrofia cardíaca fisiológica em camundongos**. 2014. 73f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) - Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

HUNTER, G.R.; BROCK, D.W.; BYRNE, N.M.; CHANDLER-LANEY, P.; CORAL, P.D.; GOWER, B.A. Exercise training prevents regain of visceral fat for 1-year following weight loss. ***Obesity (Silver Spring, Md)***;18(4):690-695, 2010.

ISKEN, F.; KLAUSC, S.; OSTERHOFFA, M.; PFEIFFERA, A. F. H.; WEICKERT, M. O. Effects of long-term soluble vs. insoluble dietary fiber intake on high-fat diet-induced obesity in C57BL/6J mice. ***Journal of Nutritional Biochemistry***, v. 21, p. 278–284, 2010.

JACKSON, M.J.; PYE, D.; PALOMERO, J. The Production of Reactive Oxygen and Nitrogen Species by Skeletal Muscle. ***Journal of Applied Physiology***. p. 1664-1670, 2007.

JENKINS, R. R. Free radical chemistry: relationship to exercise. ***Sport Med.*** v.5, p.156-170, 1988.

JENKINS, R.R.; GOLDFARB, A. Introduction: oxidative stress, aging, and exercise. ***Medicine and Science in Sports and Exercise***, v. 25, p. 210-212, 1993.

JESSEN N, et al. Exercise increases TBC1D1 phosphorylation in human skeletal muscle. ***Am J Physiol Endocrinol Metab.***, v.301, p.164-171, 2011.

JI, L. L.; STRATMAN, F. W.; LARDY, H. A. Antioxidant enzyme systems in rat liver, and skeletal muscle: influences of selenium deficiency, chronic training and acute exercise. ***Arch. Biochem. Biophys.***, v.263, p.150-160, 1988.

JI, L. L. Exercise and oxidative stress: Role of the cellular antioxidant systems. ***Exerc. Sport Sci.***, v.23, p.135-166, 1995.

JI, L.L.; GOMEZ-CABRERA, M.C.; STEINHAFEL, N.; VIÑA, J. Acute Exercise Activates Nuclear Factor (NF)- $\kappa$ B Signaling Pathway in Rat Skeletal Muscle. ***The Journal of the Federation of American Societies for Experimental Biology*** , v. 18, p. 1499-1506, 2004.

JØRGENSEN, S.B.; JENSEN, T.E.; RICHTER, E.A. Role of AMPK in skeletal muscle gene adaptation in relation to exercise. *Appl Physiol Nutr Metab.*, v.32, n.5, p. 904-11, 2007.

KADOGLOU, N. P.; ILIADIS, F.; ANGELOPOULOU, N.; PERREA, D.; AMPATZIDIS, G.; LIAPIS, C. D.; ALEVIZOS, M. The anti-inflammatory effects of exercise training in patients with type 2 diabetes mellitus. *European Journal Cardiovascular Prevention Rehabilitation*, v.14, n.6, p.837-43, 2007.

KAPLAN, M.L.; CHESLOW, Y.; VIKSTROM, K.; MALHOTRA, A.; GEENEN, D.L.; NAKOUZI, A.; LEINWAND, L.A.; BUTTRICK, P.M. Cardiac adaptations to chronic exercise in mice. *Am. J. Physiol.*, v.267, p.1167-1173, 1994.

KARLSSON, J.; NORDESJO, L.O.; SALTIN, B. Muscle glycogen utilization during exercise after physical training. *Acta Physiol Scand.*, Jan; v.90, n.1, p.210-217, 1974.

KEITH, S.W.; REDDEN, D.T.; KATZMARZYK, P.T et al. Putative contributors to the secular increase in obesity: exploring the roads less traveled. *Int J Obes (Lond)*. Nov; 30:1585-1594, 2006.

KEMI, O.; HARAM, P.; WISLOFF, U.; ELLINGSEN, O. Aerobic fitness is associated with cardiomyocyte contractile capacity and endothelial function in exercise training and detraining. *Circulation*, v. n.109, p.2897-2904, 2004.

KINGWELL, B.A. Nitric oxide-mediated metabolic regulation during exercise: effects of training in health and cardiovascular disease. *FASEB J.*; 14: 1685-96, 2000.

KIRÁLY, M. A.; BATES, H. E.; KANIUK, N. A.; YUE, J. T. Y.; BRUMELL, J. H.; MATTHEWS, S. G.; RIDDELL, M. C.; VRANIC, M. Swim training prevents hyperglycemia in ZDF rats: mechanisms involved in the partial maintenance of  $\beta$ -cell function. *Am J Physiol Endocrinol Metab.*, v. 294, p. E271-E283, 2008.

KONARSKA, L.; TOMASZEWSKI, L. A simple quantitative micromethod of arginase assay in blood spots dried on filter paper. *Clin Chim Acta.*, v.154, n.1, p.7-17, 1986.

KRAEMER, W. J.; HAKKINEN, K.; NEWTON, R. U.; MCCORMICK, M.; NINDL, B. C.; VOLEK, J. S.; GOTSHALK, L. A.; FLECK, S. J.; CAMPBELL, W. W.; GORDON, S. E.; FARREL, P. A.; EVANS, W. J. Acute hormonal responses to heavy resistance exercise in younger and older men. *European Journal of Applied Physiology*, Berlin, v.77, p. 206-211, 1998.

KRAUS, W.E.; HOUMARD, J.A.; DUSCHA, B.D.; KNETZGER, K.J.; WHARTON, M.B.; MCCARTNEY, J.S.; BALES, C.W.; et al. Effects of the amount and intensity of exercise on plasma lipoproteins. *N Engl J Med.*, v.347, p.1483-1492, 2002.

KREGEL, K.C.; ALLEN, D. L.; BOOTH, F.H.; FLESHNER, M.R.; HENRIKSEN, E.J.; MUSCH, T.L.; et al. **Resource Book for the Design of Animal Exercise Protocols**. American Physiological Society Bethesda, MD. 2006.

LANGIN, D. Control of fatty acid and glycerol release in adipose tissue lipolysis. **C. R. Biologies.**;329:598–607, 2006.

LEE, I.M.; SHIROMA, E.J.; LOBELO, F.; et al. Effect of physical inactivity on major non-communicable diseases worldwide: an analysis of burden of disease and life expectancy. **Lancet**. v.380, p.219- 229, 2012.

LEEWENBURGH, C.; FIEBIG, R.; CHANDWANNEY, R.; JI, L. L. Aging and exercise training in skeletal muscle: Responses of glutathione and antioxidant enzyme systems. **Am. J. Physiol.**, v.267, p.439-445; 1994.

LEHNINGER, A.L. **Princípios de bioquímica**. São Paulo: Sarvier, 1985.

LEUNG, F.P.; YUNG. L.M.; LAHER, I.; YAO, X.; CHEN, Z.Y.; HUANG, Y. Exercise, vascular wall and cardiovascular diseases: an uptade (part1). **Sports Med.**, v.38, n.12, p.1009-24, 2008.

LIMA, D.F.; LEVY, R.B.; LUIZ, O.C. Recomendações para atividade física e saúde: consensos, controvérsias e ambiguidades. **Ver Panam Salud Publica**, Washington, v.36, n.3, p.164-170, 2014.

LIMA-SILVA, A. E.; ADAMI, F.; NAKAMURA, F. Y.; DE-OLIVEIRA, F. R.; DA SILVA, G, M. Fat metabolism during exercise: mechanisms of regulation. **Brazilian Journal of Kinanthropometry and Human Performance**, 8(4), 106-114, 2006.

LUCIANO, E.; CARNEIRO, E.M.; CARVALHO, C.R.; CARVALHEIRA, J.B.; PERES, S.B.; REIS, M.A.; SAAD, M.J.; BOSCHERO, A.C.; VELLOSO, L.A. Endurance training improves responsiveness to insulin and modulates insulin signal transduction through the phosphatidylinositol 3- kinase/Akt-1 pathway. **European Journal of Endocrinology**, v.147, n.1, p.149-157, 2002.

LUIKING, Y. C.; ENGELEN, M. P. K. J.; DEUTZ, N. E. P. Regulation of nitric oxide production in health and disease. **Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care**, v. 13, p. 97–104, jan. 2010.

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

MANN, S.; BEEDIE, C.; BALDUCCI, S.; ZANUSO, S.; ALLGROVE, J.; BERTIATO, F.; et al. Changes in insulin sensitivity in response to different modalities of exercise: a review of the evidence. **Diabetes Metab. Res. Rev.**, v.30, p.257-268, 2014.



MANSUR, A. P.; FAVARATO, D. Mortalidade por doenças cardiovasculares no Brasil e na região metropolitana de São Paulo: atualização 2011. **Arq. Bras. Cardiol.**, São Paulo, v.99, n.2, 2012.

MARTIN, W. H. Effects of acute and chronic exercise on fat metabolism. **Exercise and Sports Science Reviews**, Santa Barbara, v. 24, p. 203-231, 1996.

MASTELARI, R.B.; DE SOUZA, H.C.; LENHARD, A.; DE AGUIAR, C.F.M.; MARTINS-PINGE, M.C. Nitric oxide inhibition in paraventricular nucleus on cardiovascular and autonomic modulation after exercise training in unanesthetized rats. **Brain Research**, Amsterdam, v.23, n.1375, p.68-76, 2011.

MATHEWS, D. K.; FOX, E. L. **The physiological basis of physical education and athletics**. 2<sup>o</sup> ed., London, W.B. Saunders Company, 1976.

MATSUDO, S.M.; MATSUDO, V.R. Agita São Paulo: encouraging physical activity as a way of life in Brasil. In: FREIRE, W. B. (Ed.). **Nutrition and an active life: from knowledge to action**. Washington: PAHO, p.141-60, 2005.

MATSUO, M.; KANEKO, T. The chemistry of reactive oxygen species and related free radicals. In: Radák Z, editor. **Free Radicals in Exercise and Aging Champaign: Human Kinetics** p. 1-33; 2001.

McARDLE, W. D.; KATCH, F. I.; KATCH, V. L. **Fisiologia do exercício energia, nutrição e desempenho**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003.

MEDEIROS, A; OLIVEIRA, E.M.; GIANOLLA, R.; CASARINI, D.E.; NEGRÃO, C. E.; BRUM, P.C. Swimming training increases cardiac vagal activity and induces cardiac hypertrophy in rats. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.37, n.12, p.1909-1917, 2004.

MEISSNER, M.; HAVINGA, R.; BOVERHOF, R.; KEMA, I.; GROEN, A.K.; KUIPERS, F. Exercise enhances whole-body cholesterol turnover in mice. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, Hagerstown, v.42, n.8, p.1460-1468, 2010.

MENDES, R.; SOUSA, N.; BARATA, J.L. Atividade física e saúde pública: recomendações para a prescrição de exercício. **Acta Med Port.**; 24: 1025–30, 2011.

MEYDANI, M.; EVANS, W. J. Free radicals, exercise, and aging. In: Yu, B. P., ed. **Free Radical in Aging**. Boca Raton: CRC Press, p.183-204, 1993.

MILLS, P.C.; NG, J.C.; THORNTON, J.; SEAWRIGHT, A.A.; AUER, D.E. Exercise-induced connective tissue turnover and lipid peroxidation in horses. **Br Vet J.** ;150:53–6, 1994.

MINAMI, A.; ISHIMURA, N.; HARADA, N.; SAKAMOTO, S.; NIWA, Y.; NAKAYA, Y. Exercise training improves acetylcholine-induced endothelium-dependent hyperpolarization in type 2 diabetic rats, Otsuka Long-Evans Tokushima fatty rats. **Atherosclerosis**, v.162, p.85-92, 2002.

MIRANDA, L.; VIARO, F.; CENEVIVA, R; EVORA, P.R. As bases experimentais da lesão por isquemia e reperfusão do fígado. **Acta Cirurgica Brasileira**, v. 19, p.3-11, 2004

MOLNAR, J.; YU, S.; MZHAVIA.; PAU, C.; CHERESHNEV, I.; DANSKY, H.M. Diabetes induces endothelial dysfunction but does not increase neointimal formation in high-fat diet fed C57BL/6J mice. **Circ Res**, v.96, p.1178–1184, 2005.

MONCADA, S.; HIGGS, A. The L-arginine-nitric oxide pathway. **N Engl J Med.**, v.329, n.27, p.2002-2012, 1993.

MONDON, C.E.; DOLKAS, C.B.; REAVEN, G.M. Site of enhanced insulin sensitivity in exercise-trained rats at rest. **American Journal of Physiology**; 239: E169-177, 1980.

MORENO, B.; LOPEZ, M, MORENO, S. Obesidad, concepto y clasificación. Em. **Obesidad presente y futuro**. Biblioteca aula médica. Espana, 1997.

MOSTARDA, C ROGOW A, SILVA I, DE LA FUENTE R, JORGE L, RODRIGUES B, HEEREN M, CALDINI E, DE ANGELIS K, IRIGOYEN M. Benefits of exercise training in diabetic rats persist after three weeks of detraining. **Auton Neurosci.**, v.28, n.145, p.11-16, 2009.

MOTTA, V. T. **Bioquímica Clínica: Princípios e Interpretações**.5ª edição. São Paulo: Medbook, 400p. 2009

MOTTA, F. V.; MANDARIM-LACERDA, C. A. Beneficial Effects of Exercise Training (Treadmill) on Body Mass and Skeletal Muscle Capillaries/Myocyte Ratio in C57BL/6 Mice Fed High-Fat Diet. **Int. J. Morphol.**, 30(1):205-210, 2012.

MOTTA, V.F.; AGUILA, M.B.; MANDARIM-DE-LACERDA, C.A. High-intensity interval training (swimming) significantly improves the adverse metabolism and comorbidities in diet-induced obese mice. **The Journal of Sports Medicine and Physical Fitness.**, v.54, p.203-209, 2015.

MOTTA, V.F.; AGUILA, M.B.; MANDARIM-DE-LACERDA, C.A. High-intensity interval training (swimming) significantly improves the adverse metabolism and comorbidities in diet-induced obese mice. **J Sports Med Phys Fitness**, v.56, n.5, p.655-63, 2016.

MURRAY, R.K. et al. **Bioquímica ilustrada de Harper**. 29. ed. Porto Alegre: AMGH, 2014.

NAGAI, N.; MORITANI, T. Effect of physical activity on autonomic nervous system function in lean and obese children. **International journal of obesity and related metabolic disorders**, London, v.28, n.1, p.27-33, 2004.

NAHAS, M.V. **Atividade física, saúde e qualidade de vida: conceitos e sugestões para um estilo de vida ativo**. 3. ed. Londrina: Midiograf, 2003.

NASCIMENTO, C.M.O.; RIBEIRO, E.B.; OYAMA, L.M. Metabolism and secretory function of white adipose tissue: effect of dietary fat. *An Acad Bras Cienc*. 2009; 81(3): 453-66.

NAVARRO-ARÉVALO, A.; SÁNCHEZ-DEL-PINO, M.J. Age and exercise-related changes in lipid peroxidation and superoxide dismutase activity in liver and soleus muscle tissues of rats. *Mechanisms of Ageing and Development*, v.104, n.1, p.91-102, 1998.

NEUBAUER, O.; REICHHOLD, S.; NICS, L.; HOELZL, C.; VALENTINI, J.; STADLMAYR, B.; KNASMÜLLER, S.; WAGNER, K. Antioxidant Responses to an Acute Ultra-endurance Exercise: Impact on DNA Stability and Indications for an Increased Need for Nutritive Antioxidants in the Early Recovery Phase. *British Journal of Nutrition*, p. 1129–1138, 2010.

NUNES, A.P.O.B.; VINAGRE, C.G.C.M.; MARANHÃO, R.C. Exercício físico e metabolismo de lípidos plasmáticos. Em: Negrão CE, Barretto ACP, editores. **Cardiologia do exercício: do atleta ao cardiopata**. Barueri: Manole; 2010.

OH, K.S.; KIM, E.Y.; YOON, M.; LEE, C. Swim training improves leptin receptor deficiency-induced obesity and lipid disorder by activating uncoupling proteins. *Exp Mol Med*, v.39, p.385-394. 2007.

OKITOLONDA, W.; BRICHARD, S.M.; HENQUIN, J.C. Repercussions of chronic protein-calorie malnutrition on glucose homeostasis in the rat. *Diabetologia*, 30:946–951, 1987.

O'NEILL, H.M.; MAARBJERG, S.J.; CRANE, J. D.; JEPPESEN, J.; JORGENSEN, S.B.; SCHERTZER, J. D.; et al. 2011. AMP-activated protein kinase (AMPK) beta1beta2 muscle null mice reveal an essential role for AMPK in maintaining mitochondrial content and glucose uptake during exercise. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, v.108, p.16092-16097, 2011.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. Disponível em <http://www.who.int>. Acesso em: 18 nov. 2012.

ORTUÑO-SAHAGÚN, D.; PALLÀS, M.; ROJAS-MAYORQUÍN, A. E. Oxidative stress in aging: advances in proteomic approaches. *Oxid. Med. Cell. Longev*. 2014:573208., 2014.

OSCAI, L.B.; HOLLOSZY, J.O. Effects of weight changes produced by exercise, food restriction, or overeating on body composition. *Journal of Clinical Investigation*.,48(11):2124-2128, 1969.

OSTMAN, I.; NYBACK, H. Adaptive changes in central and peripheral noradrenergic neurons in rats following chronic exercise. **Neuroscience**, v.1, n.1, p.41-47, 1976.

OZTASAN, N.; TAYSI, S.; GUMUSTEKIN, K.; et al. Endurance training attenuates exercise-induced oxidative stress in erythrocytes in rat. **European Journal of Applied Physiology**, v.91, n.5-6, p.622-627. 2004.

PAULI, J.R.; ROPELLE, E.R.; CINTRA, D.E.; DE SOUZA, C.T.; DA SILVA, A.S.; MORAES, J.C.; PRADA, P.O.; DE ALMEIDA LEME, J.A.; LUCIANO, E.; VELLOSO, L.A.; CARVALHEIRA, J.B.; SAAD, M.J. Acute exercise reverses aged-induced impairments in insulin signaling in rodent skeletal muscle. **Mech Ageing Dev.**, v.131, n.5, p.323-9, 2010.

PARKER, L. Oxidants, antioxidant nutrients and the athlete. **Journal of Sports Sciences**, v. 15, p. 353-63,1997.

PATE, R.R.; PRATT, M.; BLAIR, S.N.; HASKELL, W.L.; MACERA, C.A.; BOUCHARD, C.; et al. Physical activity and public health. A recommendation from the Centers for Disease Control and Prevention and the American College of Sports Medicine. **JAMA**, v.273, n.5, p.402-7, 1995.

PATTI, M.E.; KAHN, C.R. The insulin receptor: a critical link in glucose 13. homeostasis and insulin action. **J Basic Clin Physiol Pharmacol.**;9(2-4):89-109, 1998.

PEDERSEN, B.K.; FISCHER, C.P. Beneficial health effects of exercise - the role of IL-6 as a myokine. **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 28, n.4, Feb., 2007.

PEREIRA, J. V. **Bioquímica Clínica**. 2ª. ed. João Pessoa: Universitátia-UFPB, 2008. 364 p.

PEREIRA, L.O.; FRANCISCHI, R.P.; LANCHÁ JR, A.H. Obesity: dietary Intake, sedentarism and insulin resistance. **Arq Bras Endocrinol Metab.**, p.111-127, 2003;

PEREIRA, L.O.; LANCHÁ, A.H. Effect of insulin and contraction up on glucose transport in skeletal muscle. **Progress in Biophysics & Molecular Biology**, v.84, p.1-27, 2004.

PERNOW, J.; JUNG, C. Arginase as a potential target in the treatment of cardiovascular disease: reversal of arginine steal? **Cardiovasc Res.**, v.98, p.334-343, 2013.

Phys. Act. Guidel. Advis. Comm. 2008. Physical Activity Guidelines Advisory Committee Report: 2008. Washington, DC: US Dep. Health Hum. Serv. [http://www.health.gov/paguidelines/ Report/pdf/CommitteeReport.pdf](http://www.health.gov/paguidelines/Report/pdf/CommitteeReport.pdf)

PESSIN, J.E.; SALTIEL, A.R. Signaling pathways in insulin action: molecular targets of insulin resistance. **J Clin Invest.**;106(2)165-9, 2000.

PINHO, R.A.; ANDRADES, M.E.; OLIVEIRA, M.R.; PIROLA, A.C.; ZAGO, M.S.; SILVEIRA, P.C; et al. Imbalance in SOD/CAT activities in rat skeletal muscles submitted to treadmill training exercise. **Cell Biol Int.** v.30, p.848-53, 2006.

PINHO, R.A; et al. Exercício físico regular diminui o estresse oxidativo pulmonar em ratos após exposição aguda ao carvão mineral. **Rev Bras Med Esporte.** v.12, 2006.

PISOSCHI, A.M.; POP, A. The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. **Eur. J. Med. Chem.**, 97, 55–74, 2015.

PLOUGHMAN, M.; GRANTER-BUTTON, S.; et al. Endurance exercise regimens induce differential effects on brain-derived neurotrophic factor, synapsin-I and insulin-like growth factor I after focal ischemia. **Neuroscience**, v.136, n.4, p.991-1001, 2005.

POWERS, S.K.; CRISWELL, D.; LAWLER, J.; JI, L.L.; MARTIN, D.; HERB, R. A.; DUDLEY, G. Influence of exercise and fiber type on antioxidant enzyme activity in rat skeletal muscle. **Am. J. Physiol.**, v.266, p.375-380, 1994.

POWERS, S.K.; JACKSON, M.J. Exercise-Induced Oxidative Stress: Cellular Mechanisms and Impact on Muscle Force Production. **Physiol Rev** 88: 1243–1276, 2008.

RADAK, Z.; TAYLOR, A.W.; OHNO, H.; GOTO, S. Adaptation to exercise-induced oxidative stress: from muscle to brain. **Exerc Immunol Rev.**, v.7, p.90-107, 2001.

RADAK, Z.; ZHAO, Z.; KOLTAI, E.; OHNO, H.; ATALAY, M. Oxygen consumption and usage during physical exercise: the balance between oxidative stress and ROS-dependent adaptive signaling. **Antioxid Redox Signal.** v.18, n.10, p.1208-46, 2013.

RABÊLO, L.A.; CORTES, S.F.; ALVAREZ-LEITE, J.I.; LEMOS, V.S. Endothelium dysfunction in LDL receptor knockout mice: a role for H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. **British Journal of Pharmacology**, v.138, p.1215-1220, 2003.

RABÊLO, L.A.; FERREIRA, F.O.; NUNES-SOUZA, V.; FONSECA, L.J.; GOULART, M.O. Arginase as a critical prooxidant mediator in the binomial endothelial dysfunction-atherosclerosis. **Oxid. Med. Cell. Longev.**, v.5, p.1-12, June 2015.

RAMEL, A.; WAGNER, K-H.; ELMADFA, I. Plasma antioxidants and lipid oxidation after submaximal resistance exercise in men. **Eur. J. Nutr**, v. 43, p. 2-6, 2004.

REID, M.B. Reactive oxygen and nitric oxide in skeletal muscle. **News of Physiology and Science**, v. 11, p. 114-119, 1996.

REID, M.B. Role of nitric oxide in skeletal muscle: synthesis, distribution and functional importance. **Acta Physiologica Scandinavica**, v. 162, p. 401-409, 1998.

REID, M. B. Redox modulation of skeletal muscle contraction: what we know and what we don't. **J. Appl. Physiol.**, v.90, p.724-731; 2001.

REID, M.B.; DURHAM, W.J. Generation of reactive oxygen and nitrogen species in contracting skeletal muscle – potential impact on aging. **Ann. N. Y. Acad. Sci.**, v. 959, p. 108-116, 2002.

REN, J.; GRUNDY, S.M.; LIU, J.; et al. Long-term coronary heart disease risk associated with very-low-density lipoprotein cholesterol in Chinese: the results of a 15-year Chinese Multi-Provincial Cohort Study (CMCS) **Atherosclerosis**, v.211, n.1, p.327-332, 2010.

RIDDELL, M.; PERKINS, B. Type 1 diabetes and vigorous exercise: Applications of exercise physiology to patient management. **Can. J. Diab.** v. 30, p. 63-71, 2006

ROBERTS, C.K.; BARNARD, R.J.; JASMAN, A.; BALON, T.W. Acute exercise increases nitric oxide synthase activity in skeletal muscle. **Am J physiol Endocrinol Metab.**; 277(2 Pt 1):E390-4, 1999.

ROMIJN, J.A.; COYLE, E.F.; SIDOSSIS, L.S.; et al. Regulation of endogenous fat and carbohydrate metabolism in relation to exercise intensity and duration. **Am J Physiol.**,v.265, p.380-391, 1993.

ROPELLE, E.R.; PAULI, J.R.; PRADA, P.O.; DE SOUZA, C.T.; PICARDI, P.K.; CINTRA, D.E et al. Reversal of diet-induced insulin resistance with single bout of exercise in the rat the role of PTP1B and IRS-1 serine phosphorylation. **J Physiol.**; 577:997-1007, 2007.

ROQUE, F. R.; SOCI, U. P.; DE ANGELIS, K.; COELHO, M. A.; FURSTENAU, C. R.; VASSALLO, D. V.; IRIGOYEN, M. C.; OLIVEIRA, E. M. Moderate exercise training promotes adaptations in coronary blood flow and adenosine production in normotensive rats. **Clinics**, São Paulo, v. 66, p. 2105-11, 2011.

RUDOLPH, V.; FREEMAN, B.A. Cardiovascular consequences when nitric oxide and lipid signaling converge. **Circulation Research**, Dallas, v.105, n.6, p.511-522, 2009.

RUSH, J.W.; FORD, .RJ. Nitric oxide, oxidative stress and vascular endothelium in health and hypertension. **Clin Hemorheol Microcirc.**, v.37, n.1-2, p.185-92, 2007.

RYOO, S.; BERKOWITZ, D.E.; LIM, H.K. Endothelial arginase II and atherosclerosis. **Korean J Anesthesiol.**, v. 61, n.1, p.3-11, 2011.

SACCHETTI, M.; SALTIN, B.; OLSEN, D. B.; VAN HALL, G. High triacylglycerol turnover rate in human skeletal muscle. **The Journal of physiology**; 561(Pt 3):883-91, 2004.

SACHDEV, S.; DAVIES, K.J. Production, detection, and adaptive responses to free radicals in exercise. **Free Radic Biol Med.** v.44, p.215-223, 2007.

SAKELLARIOU, G.K.; VASILAKI, A.; PALOMERO, J.; KAYANI, A.; ZIBRIK, L.; MCARDLE, A.; JACKSON, M.J. Studies of Mitochondrial and Nonmitochondrial

Sources Implicate Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate Oxidase(s) in the Increased Skeletal Muscle Superoxide Generation That Occurs During Contractile Activity. **Antioxidants & redox signaling** 18: 1-19, 2012.

SAME, R.V.; FELDMAN, D.I.; SHAH, N.; MARTIN, S.S.; RIFAI, M.A.; BLAHA, M.J.; GRAHAM, G.; AHMED, H.M. Relationship Between Sedentary Behavior and Cardiovascular Risk. **Curr Cardiol Rep.**, v.18, n.1, p.1, 2016.

SANTHANAM, L.; CHRISTIANSON, D.W.; NYHAN, D.; BERKOWITZ, D.E. Arginase and vascular aging. **J Appl Physiol.**, v.105, n.5, p.1632-42, Nov 2008.

SARACENI, C.; BRODERICK, T. L. Cardiac and metabolic consequences of aerobic exercise training in experimental diabetes. **Curr Diabetes Ver.**, v.3, n.1, p.75-84. 2007.

SEBBEN, V.; GUEDES, J.M.; BERTOLIN, T.E.; TAGLIARO, M.L.; FILHO, H.T. Radicais livres: qual a influência do exercício no envelhecimento humano? **EFDeportes – Revista Digital**, n. 153, 2011.

SEN, C. K. Oxidants and antioxidants in exercise. **J. Appl. Physiol.**, v.79, p.675-686, 1995.

SHARKEY, B. J. Fitness and Health: our complete guide to developing aerobic fitness, muscular fitness, good nutrition, weight control and improved performance. 4a ed., USA: **Human Kinetics**, 1997.

SCHNEIDER, C.D.; OLIVEIRA, A.R. Oxygen free radicals and exercise: mechanisms of synthesis and adaptation to the physical training. **Rev Bras Med Esporte**, Niterói, v. 10, n. 4, p. 308-313, Aug. 2004.

SHEPHARD, P.R.; NAVE, B.T.; SIDDLE, K. Insulin stimulation of glycogen synthesis and glycogen synthase activity is blocked by wortmanin and rapamycin in 3T3-L1 adipocytes: evidence for the involvement of phosphoinositide 3-kinase and p70 ribosomal protein-S6 kinase. **Biochem J.**;305(pt.1):25-8, 1995.

SIASOS, G. et al. L-Arginine, the substrate for NO synthesis: An alternative treatment for premature atherosclerosis? **Int. J. Cardiol.**, v.116, n.3, p.300-8, 2006.

SIDDIQUI, N.I.; NESSA, A.; HOSSAIN, M.A. Regular physical exercise: way to healthy life. **MMJ**. 19(1):154-8, 2010.

SIDOSSIS, L.; GASTALDELLI, A.; KLEIN, S.; WOLFE, R.R. Regulation of plasma fatty acid oxidation during low- and high-intensity exercise. **Am J Physiol.**, v.272, p.1065-1070, 1997.

SIES, H. Biochemistry of oxidative stress. **Angew. Chem. Int. Ed. Engl.** v.25, p.1058-1071, 1986.

SILVEIRA, L.R.; FIAMONCINI, J.; HIRABARA, S.M.; PROCOPIO, J.; CAMBIAGHI, T.D, et al. Updating the effects of fatty acids on skeletal muscle. *J Cell Physiol*; 217:1-12, 2008.

SJÖDIN, B.; WESLING, H.; APPLE, S. Biochemical mechanisms for oxygen free radical formation during exercise. *Sports Medicine*, v. 10, p. 236-254, 1990

SLENTZ, C.A. et al. Effects of aerobic vs. resistance training on visceral and liver fat stores, liver enzymes, and insulin resistance by HOMA in overweight adults from STRIDE AT/RT. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism.*, v.301, n.5, p.E1033-E1039, 2011.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA. Departamento de aterosclerose. IV diretiz Brasileira sobre dislipidemias e Prevenção da aterosclerose. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, São Paulo, v.88 (supl 1), p.2-19, 2007.

SONG, Y.J.; SAWAMURA, M.; IKEDA, K.; IGAWA, S.; NARA, Y.; YAMORI, Y. Training in swimming reduces blood pressure and increases muscle glucose transport activity as well as GLUT4 contents in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *Appl Hum Sci.*, v.17, p.275-280, 1998.

SONG, A.; WANG, C.; REN, L.; ZHAO, J. Swimming improves high-fat induced insulin resistance by regulating lipid and energy metabolism and the insulin pathway in rats. *Int J Mol Med.*, v.33, p.1671– 1679, 2014.

STEPPAN, J.; RYOO, S.; SCHULERI, K.H.; GREGG, C.; HASAN, R.K.; WHITE, A.R.; et al. Arginase modulates myocardial contractility by a nitric oxide synthase 1-dependent mechanism. *Proc Natl Acad Sci USA.*, v.103, n.12, p.4759-64, 2006.

STRONG, W.B.; et al. Evidence based physical activity for school-age youth. *The Journal of pediatrics*, v.146, n.6, p.732-737, 2005.

SUN, D.; HUANG, A.; KOLLER, A.; KALEY, G. Adaptation of flow-induced dilation of arterioles to daily exercise. *Microvasc Res.*, v.56, p.54-61, 1998.

SUN, Y.; CUI, D.; ZHANG, Z.; ZHANG, T.; SHI, J.; JIN, H.; GE, Z.; DING, S. Attenuated Oxidative Stress following Acute Exhaustive Swimming Exercise Was Accompanied with Modified Gene Expression Profiles of Apoptosis in the Skeletal Muscle of Mice. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016, 8381242.

TALBOT, L.A.; MORRELL, C.H.; FLEG, J.L.; METTER, E.J. Changes in leisure time physical activity and risk of all-cause mortality in men and women: The Baltimore Longitudinal Study of Aging. *Prev Med.*, v.45, n.2-3, p.69–76, 2007.

TIIDUS, P.M. Radical species in inflammation and overtraining. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*; 76: 533-538, 1998.

TOYE, A.A.; DUMAS, M.E.; BLANCHER, C.; ROTHWELL, A.R.; FEARNSIDE, J.F.; et al. Subtle metabolic and liver gene transcriptional changes underlie diet-induced



fatty liver susceptibility in insulin-resistant mice. *Diabetologia*, v.50, p.1867–1879, 2007.

TROMM, C. B.; SILVA, L. A.; PINHO, R. A. Mecanismos moleculares antioxidantes modulados pelo exercício físico. *Revista Brasileira de Fisiologia do Exercício* - Volume 11 Número 2 - abril/junho 2012.

TSAKIRIS, S.; PARTHIMOS, T.; PARTHIMOS, N.; TSAKIRIS, T.; SCHULPIS, K.H. The Beneficial Effect of L-cysteine Supplementation on DNA Oxidation Induced by Forced Training. *Pharmacological Research*, p. 386-390, 2006.

TUBINO, M.J.G. **Metodologia científica do treinamento desportivo**. São Paulo: Editora Ibrasa, 1979.

U.S. Dep. Health Hum. Serv. 2008. Physical Activity Guidelines for Americans. U.S. Department of Health and Human Services, 2008. ODPHP Publ. No. U0036. <http://www.health.gov/paguidelines/pdf/paguide.pdf>

URSO, M.L.; CLARKSON, P.M. Oxidative Stress, Exercise, and Antioxidant Supplementation. *Toxicology*, p. 41-54, 2003.

VAISMAN, B. L. et al. Selective endothelial overexpression of arginase II induces endothelial dysfunction and hypertension and enhances atherosclerosis in mice. *PloS one*, v. 7, n. 7, p. e39487, jan. 2012

VALKO, M.; IZAKOVIC, M.; MAZUR, M.; RHODES, C.J. AND TELSER, J. Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence. *Molecular and Cellular Biochemistry*, v.266, p.37–56, 2004.

VALKO, M.; RHODES, C.J.; MONCOLA, J.; IZAKOVIC, M.; MAZUR, M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions*, v.160, p.1-40, 2006.

VANHOUTE, P.M.; SHIMOKAWA, H.; TANG, E.H.C.; FELETOU, M. Endothelial dysfunction and vascular disease. *Acta Physiol.*, v.196, p.193-222, 2009.

VENDITTI, P.; NAPOLITANO, G.; BARONE, D.; DI MEO, S. Effect of training and vitamin E administration on rat liver oxidative metabolism P. *Free Radical Research*, v.48, n.3, p.322-332, 2014.

VENDITTI, P.; NAPOLITANO, G.; BARONE, D.; DI MEO, S. Vitamin E supplementation modifies adaptive responses to training in rat skeletal muscle. *Free Radic Res.*, v.48, n.10, p.1179-89, 2014.

VIEIRA, R.C.; SILVA, C.M.S.; DE ARAUJO, M.B.; GARCIA, A.; VOLTARELLI, V.A.; DOS REIS, A.D.; VOLTARELLI, F.A. (2013). Aerobic Swimming Training Increases the Activity of Antioxidant Enzymes and the Glycogen Content in the Skeletal Muscle of Rats. *Revista Brasileira De Medicina Do Esporte*, v.19, n.3, p.204-208.

VINA, J.; GOMEZ-CABRERA, MC.; LLORET MARQUEZ, R.; MINANA, J.B.; PALLARDO, F.V; SASTRE, J. Free radicals in exhaustive physical exercise: mechanism of production, and protection by antioxidants. *IUBMB Life*. v.5, p.271–277, 2000.

VOLTARELLI, F. A.; GOBATTO, C. A.; et al. Determination of anaerobic threshold in rats using the lactate minimum test. *Braz J Med Biol Res.*, v.35, n.11, p.1389-1394, 2002.

VOLTARELLI, F.A.; GOBATTO, C.A.; MELLO, M.A.R. Determination of aerobic threshold in rats using the lactate minimum test. *Braz J Med Biol.*, v35, p.1389-94, 2002.

WANG, J.; WOLIN, M.S.; HINTZE, T.H. Chronic exercise enhances endothelium-mediated dilation of epicardial coronary artery in conscious dogs. *Circ Res.*, v.73, p.829-838, 1993

WARBURTON, D.E.; KATZMARZYK, P.T.; RHODES, R.E.; SHEPHARD, R.J. Evidence-informed physical activity guidelines for Canadian Adults. *Appl. Physiol. Nutr. Metab.*, v.32, p.S16–68, 2007.

WHITE, M.F. The IRS-signalling system: a network of docking proteins that mediate insulin action. *Molecular Cell Biochemistry*;182:3-11, 1998.

WICKLMAYR, M.; RETT, K.; FINK, E.; TSCHOLLAR, W.; DIETZE, G.; MEHNERT, H. Local liberation of kinins by working skeletal muscle tissue in man. *Hormone Metabolism Research*. 1988;20(8):535

WILMOT, E.G.; EDWARDSON, C.L.; ACHANA, F.A.; DAVIES, M.J.; GORELY, T.; GRAY, L.J.; et al. Sedentary time in adults and the association with diabetes, cardiovascular disease and death: systematic review and meta-analysis. *Diabetologia*, v.55, n.11, p. 2895–905, 2012.

WILCOX, G. Insulin and Insulin Resistance. *Clinical Biochemist Reviews*;26(2):19-39, 2005

WILLIAMS, S.L.; STROBEL, N.A.; LEXIS, L.A.; COOMBES J.S. Antioxidant Requirements of Endurance Athletes: Implications for Health. *Nutrition Reviews*, v 64, n. 3, p. 93-108, 2006.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Obesity: preventing and managing the global epidemic. WHO technical report series 894. Geneva, 2000.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. *Integrated chronic disease prevention and control*. Geneva, Switzerland: World Health Organization, 2010. Disponível em: [http://www.who.int/chp/about/integrated\\_cd/en/index.html](http://www.who.int/chp/about/integrated_cd/en/index.html). Accessed August 25, 2016.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Global Health Risks. Mortality and Burden of Disease Attributable to Selected Major Risks. Geneva, Switzerland: *World Health Organization*; 2009.  
[http://www.who.int/healthinfo/global\\_burden\\_disease/GlobalHealthRisks\\_report\\_full.pdf](http://www.who.int/healthinfo/global_burden_disease/GlobalHealthRisks_report_full.pdf). Accessed August 25, 2016

WORLD HEALTH ORGANIZATION et al. 65th World Health Assembly closes with new global health measures. **Retrieved on December**, v. 22, 2012.

WHO. 2015. Cardiovascular diseases (CDVs) Fact sheet N°317.  
<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/en/>. Last access: 25-08-2016

WOJTASZEWSKI, J. F.; HIGAKI, Y.; HIRSHMAN, M. F.; MICHAEL, M. D.; DUFRESNE, S. D.; KAHN, C. R.; GOODYEAR, L. J. Exercise modulates postreceptor insulin signaling and glucose transport in muscle-specific insulin receptor knockout mice. *The Journal of Clinical Investigation*, v.104, n.9, p.1257-1264, 1999.

WOJTASZEWSKI, J.F.; RICHTER, E.A. Effects of acute exercise and training on insulin action and sensitivity: focus on molecular mechanisms in muscle. *Essays Biochem.*, v.42, p.31-46, 2006.

WU, H.; JIN, M.; HAN, D.; ZHOU, M.; MEI, X.; GUAN, Y.; LIU, C. Protective effects of aerobic swimming training on high-fat diet induced nonalcoholic fatty liver disease: Regulation of lipid metabolism via PANDER-AKT pathway. *Biochem Biophys Res Commun.*, v.458, p.862-868, 2015.

XAVIER, H. T. et al. V Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose. *Arq. Bras. Cardiol.*, São Paulo , v. 101, n. 4, supl. 1, p. 1-20, Oct. 2013 .

XU, X.; YING, Z.; CAI, M, et al. Exercise ameliorates high-fat diet-induced metabolic and vascular dysfunction, and increases adipocyte progenitor cell population in brown adipose tissue. *American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*. 300(5): R1115-R1125, 2011.

YOUNG, R.S.; GRIFFEE, S.R.; LYNES, S.E.; BRACY, D.P.; AYALA, J.E.; MCGUINNESS, O.P.; WASSERMAN, D.H. Skeletal muscle AMP-activated protein kinase is essential for the metabolic response to exercise in vivo. *Journal of Biology Chemistry*, v.284, n.36, p.23925-23934, 2009.

YOUNG et al. Sedentary Behavior and Cardiovascular Morbidity and Mortality A Science Advisory From the American Heart Association. *Circulation.*, v.134, 2016.

YUNG, L.M.; LAHER, I.; YAO, X.; CHEN, Z.Y.; HUANG, Y.; LEUNG, F.P. Exercise, vascular wall and cardiovascular diseases: an uptade (part2). *Sports Med.*, v.39, n.1, p.45-63, 2009.

ZANELLA, A. M. *et al.* Lipid profile, apolipoprotein A-I and oxidative stress in professional footballers, sedentary individuals, and their relatives. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**, São Paulo, v.55, n.2, p.121-126, 2011.

ZOPPI, C. *et al.* Alterações em biomarcadores de estresse oxidativo, defesa antioxidante e lesão muscular em jogadores de futebol durante uma temporada competitiva. **Revista Paulista de Educação Física**, p. 119-130, jul/ dez, 2003.

ZILBERSTEIN, B.; FLORA FILHO, R. Óxido nítrico: o simples mensageiro percorrendo a complexidade. Metabolismo, síntese e funções. **Rev. Ass. Med. Brasil.**, 46(3): 265-71. 2000.

## ANEXO. CERTIFICAÇÃO ÉTICA



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS  
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS  
PARECER CONSUBSTANCIADO**

**PROJETO N° 25/2014**

**TÍTULO:** Avaliação da reatividade cardiovascular, do eixo •NO/arginase/equilíbrio redox nas adaptações fisiológicas ao exercício físico em um modelo murino para natação

**RESPONSÁVEL / PESQUISADOR:** Luiza Antas Rabelo

**OBJETIVO:** Avaliar a reatividade cardiovascular e o papel do eixo •NO/arginase/equilíbrio redox nas adaptações fisiológicas ao exercício em um modelo murino para natação.

**JUSTIFICATIVA (APROVAÇÃO, PENDÊNCIA, NEGAÇÃO):**

Projeto de pesquisa apresenta escrita concisa e referenciada, com proposta de trabalho bem justificada e delineamento experimental com detalhamento dos grupos. Além do uso ético dos animais respeitando as legislações vigentes quanto à utilização destes na experimentação científica.

**SITUAÇÃO:** Aprovado

**PERÍODO DE VIGÊNCIA:** 15/06/2014 – 15/06/2016

**DADOS DO ANIMAL:**

ESPÉCIE	LINHAGEM	QUANTIDADE
Camundongo Isogênico	C57BL/6	48

Maceió, 18 de junho de 2014.

Prof.ª Dr.ª Silvana Ayres Martins

Coordenadora da CEUA/UFAL

**Prof.ª Dr.ª Silvana Ayres Martins**  
Coordenadora da Comissão de  
Ética no uso de Animais  
SIAPE 1120858