

Artigo Original

Utilização de substratos energéticos após exercício agudo de ratos treinados aerobiamente por natação

Rafael Fernando Silveira
José Alexandre Curiacos de Almeida Leme
Fúlvia de Barros Manchado
Andrei Guilherme Lopes
Márcio Sussumu Hirayama
Débora Reis Garcia
Pedro Renato Zaros
Sandra Alves de Godoy
Carla Cristiane Silva
Eliete Luciano

Departamento de Educação Física IB/UNESP Rio Claro SP Brasil

Resumo: O presente estudo objetivou analisar o efeito do treinamento aeróbio na utilização de substratos energéticos de ratos após sessão de exercício agudo. Ratos Wistar foram distribuídos nos grupos: controle e treinado. O treinamento consistiu em 4 semanas de natação, sendo 5 sessões semanais de 1 hora, com sobrecarga de 5% do peso corporal. Após esse período, os grupos foram submetidos à uma hora de natação sem carga e posteriormente sacrificados. Foram coletadas amostras sanguíneas para determinação de glicose, proteína, ácidos graxos livres (AGL) além de amostras do fígado e gastrocnêmico para análise do glicogênio. Observou-se que o treinamento não alterou as concentrações de proteína sérica, glicose sérica e glicogênio muscular após exercício agudo. Os animais submetidos ao treinamento apresentaram maiores valores de glicogênio hepático e menor concentração sérica de AGL. Conclui-se que o treinamento físico altera os padrões de mobilização de substratos após exercício agudo.

Palavras-chave: Substrato energético. Treinamento aeróbio. Natação aguda. Glicogênio.

Utilization of energetic substrates in aerobic trained swimming rats after acute exercise

Abstract: The aim of this study was to analyze the effect of aerobic training on utilization of energetic substrates of rats after a section of acute exercise. Wistar rats were distributed into two groups: control and trained. The training was accomplished in four weeks of swimming, 5 days/ week, 1 hour/day, with overload of 5% of body weight. After this, both groups were submitted to a section of 1 hour of exercise without overload. After sacrifice, blood samples were obtained to determine glucose, proteins and free fat acids (FFA) and liver and muscle samples to assess tissue glycogen. The training caused tendency to decrease in serum proteins after exercise and increase of serum glucose and muscular glycogen, but without statistic significance. Animals submitted to training presented increased values of liver glycogen and decreased of serum FFA. The results show that training alters the substrate mobilization pattern after acute exercise.

Key Words: Energetic substrates. Aerobic training. Swimming. Glycogen.

Introdução

O exercício físico é uma condição que exige diversas alterações no organismo, dentre elas, o aumento da oferta energética para suprir as exigências metabólicas do trabalho realizado. As vias que fornecem energia variam conforme a intensidade e a duração do exercício. Sua prática crônica induz a diversas adaptações que permitem ao organismo um melhor desempenho fisiológico frente ao esforço agudo.

Uma importante fonte energética para a realização do exercício é o carboidrato, o qual é armazenado na forma de glicogênio e pode ainda ser obtido pela gliconeogênese. Os estoques musculares de carboidrato são bastante limitados e, dependendo da intensidade do exercício, são depletados rapidamente (McARDLE et al., 1992). Segundo Conlee (1987), sua depleção a níveis críticos é considerada um dos fatores periféricos que ocasionam a fadiga muscular.

Grande parcela da energia destinada à transição do repouso para o exercício submáximo é fornecida pelo glicogênio armazenado nos músculos ativos, à semelhança do que ocorre no exercício intenso. Durante o exercício, o glicogênio hepático e muscular, proporciona parte da demanda energética. À medida que esta fonte vai sendo esgotada, aumenta-se a utilização dos lipídios, que passam a ser os principais substratos para a realização do exercício de resistência aeróbia, incluindo ainda, uma pequena contribuição das proteínas (AOKI; SEELANDER, 1999).

Analisando estudos sobre o assunto, Rogatto (2002) conclui que durante o “restabelecimento” do organismo frente ao exercício, a participação da via aeróbia torna-se cada vez mais significativa, utilizando componentes lipídicos em maior quantidade.

A proteína alimentar no exercício tem como função contribuir para o fornecimento de aminoácidos destinados aos vários processos anabólicos. Contudo, a proteína também é degradada para a produção de energia, contribuindo com 2 à 5% da demanda energética total do organismo. Estudos relatam que a suplementação de aspartato, aspargina e carnitina promovem maior tempo de tolerância ao esforço em ratos submetidos à natação (LANCHA JUNIOR et al., 1995).

Algumas pesquisas encontraram alterações em substratos também em exercício crônicos. Putman et al. (1998) observaram que 7 dias de treinamento submáximo foram suficientes para a promoção de alterações nas reservas musculares de glicogênio. Esse resultado parece representar uma mudança do perfil metabólico pela ação do treinamento, resultando em redução da glicogenólise, já que a produção de lactato sangüíneo foi menor no grupo treinado. Uma modificação positiva da capacidade oxidativa do músculo também pode estar envolvida com a redução das concentrações de lactato sangüíneo durante o exercício.

A depleção de estoques de glicogênio muscular e hepático está profundamente relacionada à resistência ao exercício podendo indicar fadiga e supertreinamento e relacionando-se também com a ingestão alimentar (SNYDER, 1998, TSINTZAS; WILLIAMS, 1998).

O objetivo deste estudo foi verificar o efeito do treinamento aeróbio sobre a utilização de substratos energéticos frente ao exercício agudo.

Materiais e Métodos

Animais

Para o estudo foram utilizados 12 ratos adultos machos da linhagem Wistar, provenientes do Biotério Central da

Universidade Estadual Paulista – UNESP de Botucatu, mantidos no Biotério do Laboratório de Biodinâmica do Departamento de Educação Física da UNESP de Rio Claro.

Durante o período experimental, os animais foram mantidos em gaiolas coletivas (4 ratos por gaiola), com o controle de ciclos de luminosidade (12 horas claro/ 12 horas escuro) e temperatura ambiente controlada de 25°C, recebendo ração balanceada padrão (Labina Purina®) para roedores e água *ad libitum*. Todos os procedimentos com os animais respeitaram as resoluções específicas referentes à Bioética de experimentos com animais (Lei n°. 6.638 de 08 de maio de 1979 e decreto n°. 24.645 de 10 de julho de 1934).

Os ratos foram distribuídos aleatoriamente em dois grupos distintos:

Grupo Controle (GC, n= 6) - ratos não submetidos ao protocolo de treinamento aeróbio;

Grupo Treinado (GT, n=6) - ratos submetidos ao protocolo de treinamento aeróbio.

Procedimento Experimental

Protocolo de Treinamento

Anteriormente ao desenvolvimento do treinamento, os animais de ambos os grupos foram adaptados ao meio líquido de forma padronizada, em tanques com água na profundidade de 50 cm, durante 30 minutos por dia, no período de 5 dias. O propósito da adaptação foi reduzir o estresse do animal sem, entretanto, promover adaptações fisiológicas decorrentes do treinamento físico.

Após o período de adaptação o GT iniciou o treinamento com sobrecarga de forma progressiva, sendo que no primeiro dia o grupo nadou 15 minutos, sendo acrescentados 15 minutos por dia, até atingir a duração de 1 hora.

O protocolo de treinamento consistiu de 4 semanas de natação 1 hora/ dia, com frequência semanal de 5 sessões, com animais sendo submetidos à exercício com sobrecarga de 5% do peso corporal atadas ao dorso. O treinamento ocorreu em tanques coletivos (100cm x 80cm x 80cm) e à temperatura de 31±1°C.

A intensidade do exercício foi controlada pela sobrecarga corporal acoplada com elástico ao dorso dos animais, sendo essa carga ajustada semanalmente. A escolha de 5% do peso corporal como intensidade do esforço ocorreu devido a, em média, esta carga ser equivalente à máxima fase estável de lactato para exercício de natação realizado por animais dessa linhagem (GOBATTO et al., 2001, MANCHADO et al., 2006). Desse modo é possível assegurar a característica predominantemente aeróbia do treinamento adotado.

Avaliações realizadas após período de treinamento

Ao final do período experimental de 4 semanas, todos os animais (GC e GT) foram submetidos ao exercício agudo de natação com duração de uma hora, sem a utilização de sobrecarga. Em seguida, foram sacrificados pelo método de decapitação em guilhotina, com coleta de amostras sanguíneas sendo realizadas em tubos de vidro sem anticoagulante, para posterior a avaliação dos parâmetros séricos. Também foram retiradas amostras do fígado e músculo gastrocnêmico para determinação dos estoques de glicogênio nesses tecidos.

A glicose no soro foi determinada pelo método enzimático colorimétrico da glicose oxidase/peroxidase, com kit Wiener Lab. Após 15 minutos de incubação em banho à 37°C, as absorbâncias das amostras e do padrão foram lidas em espectrofotômetro a 505nm.

Os ácidos graxos livres (AGL) foram determinados pelo método de Regow et al. (1971) modificado, conforme descrito em Nogueira et al. (1990).

A determinação das proteínas totais foi realizada pelo método proposto por Lowry et al. (1951), com posterior leitura em espectrofotômetro.

O glicogênio hepático e o glicogênio muscular foram determinados utilizando a técnica proposta por Dubois et al. (1956), e posteriormente analisado por espectrofotometria.

Análise Estatística

Os resultados obtidos estão expressos em média ± desvio padrão. Para análise estatística foi utilizada ANOVA One-Way para medidas independentes, para verificar possíveis diferenças entre os grupos, nas variáveis estudadas, frente ao exercício agudo. Em todos os procedimentos estatísticos, o nível de significância foi prefixado em P<0,05 (DAWSON-SAUNDERS; TRAPP, 1994).

Resultados

Conforme pode ser visualizado na tabela 1, os resultados obtidos no presente estudo sugerem que os ratos treinados com carga correspondente a 5 % do peso corporal, durante 4 semanas, apresentam algumas adaptações fisiológicas em relação aos animais sedentários.

Tabela 1. Valores das concentrações de glicose sérica, glicogênio muscular, proteína sérica e ácidos graxos livres (AGL) entre os grupos controle e treinado, após o exercício agudo de natação.

	Glicose (mg/dL)	Glicogênio Muscular (mg/100mg)	Proteína sérica (g/dL)
Grupo controle	102,56 ±15,42	0,28 ± 0,19	6,14 ± 0,33
Grupo treinado	110,67 ±13,02	0,36 ± 0,17	6,38 ± 0,60

Valores apresentados em média e desvio padrão.

Em relação às concentrações plasmáticas de glicose e proteínas, o grupo treinado apresentou valores estatisticamente iguais ao grupo controle. Quanto à concentração sérica de ácidos graxos livres, os valores do grupo treinado foram significativamente superiores aos do controle (Figura 1).

O treinamento utilizado não foi capaz de promover modificações no glicogênio muscular, ao menos após a prática

do exercício de natação agudo. Entretanto, as concentrações hepáticas de glicogênio mantiveram-se mais elevadas no grupo treinado após realização de esforço agudo, o que conota um efeito positivo da intervenção aeróbia adotada (GT 4,09 ± 1,02; GC 2,39 ± 1,19) (Figura 2).

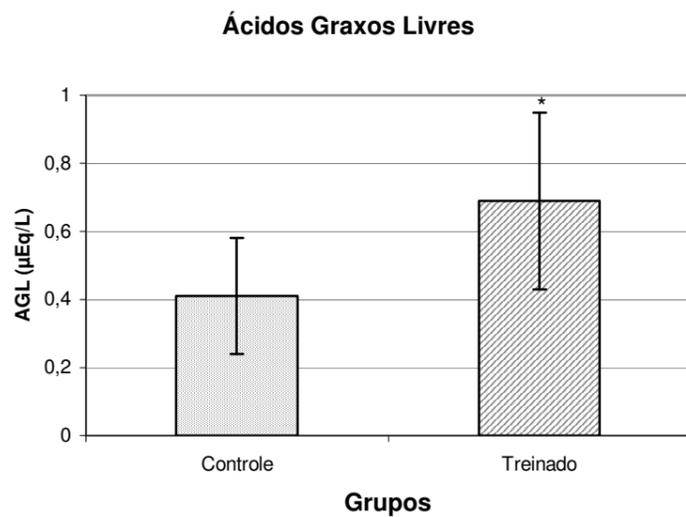


Figura 1. Concentrações de Ácidos Graxos Livres (AGL) para os grupos controle (GC) e treinado (GT), após o exercício agudo. *Diferença significativa ($P \leq 0,05$).

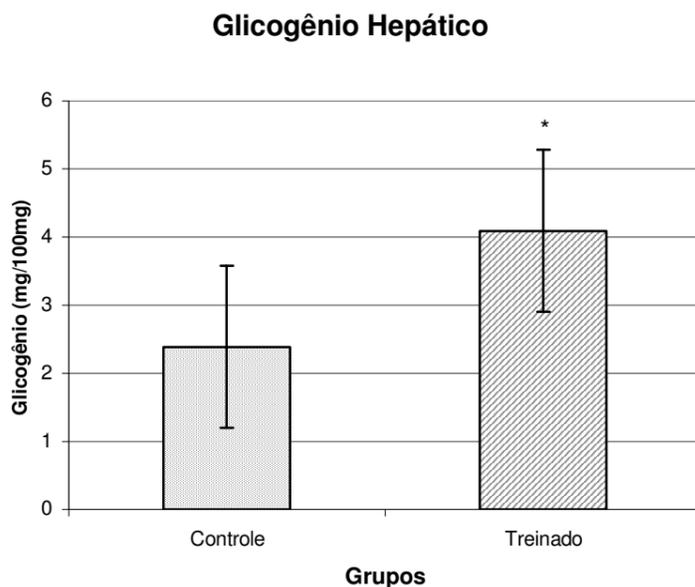


Figura 2. Concentrações de glicogênio hepático (mg/100mg) para os grupos controle (GC) e treinado (GT), após o exercício agudo. *Diferença significativa ($P \leq 0,05$).

Discussão

O treinamento físico gera várias adaptações fisiológicas que visam, entre as outras funções, otimizar a manutenção da homeostasia glicêmica, uma vez que o organismo se adapta para utilizar outros substratos energéticos para realização do trabalho, sem priorizar a glicose que é a principal fonte de

energia do cérebro.

No exercício físico agudo o organismo também procura manter a homeostasia glicêmica, sendo a utilização de hidratos de carbono continuamente diminuída conforme o aumento da duração do esforço. Essa diminuição de utilização é compensada por um aumento no metabolismo das gorduras, preservando assim as reservas de glicose.

Motriz, Rio Claro, v.13, n.1, p.07-13, jan./mar. 2007

No presente estudo foi possível observar que os ratos do grupo controle não apresentaram concentração de glicose sérica diferente do grupo dos ratos treinados. O mecanismo de manutenção da homeostasia glicêmica garantiu que ambos os grupos analisados, sustentassem níveis de glicose semelhantes, porém através de estratégias metabólicas diferentes. O grupo treinado, provavelmente por estar habituado ao exercício, apresentou tendência de utilização de outros substratos energéticos, como as gorduras, promovendo uma menor depleção da glicose sérica e conseqüentemente uma maior preservação deste substrato. Em estudo de Randle et al. (1963) foi verificado que a adição de ácidos graxos ou de corpos cetônicos, por perfusão no miocárdio, inibiu a oxidação de glicose. Os autores admitem que a oxidação desses substratos (ácidos graxos e corpos cetônicos) resultam em um aumento da acetil-CoA, acarretando na redução de oxidação de glicose. Desta forma o organismo treinado sofre adaptações positivas com relação a uma maior utilização das gorduras como substrato energético. Por outro lado o grupo controle, que não dispõe destas adaptações, continua a mobilizar glicogênio como fonte de glicose para a manutenção de seus níveis ideais basais.

Os valores de proteína sérica não apresentaram diferença, apontando para ausência de interferência de desidratação nos grupos estudados.

Os ácidos graxos livres (AGLs) podem ser utilizados como substrato energético e estão estreitamente relacionados à oxidação da glicose. Randle et al. (1963) explicam que a utilização de gordura como fonte energética libera AGL, que ao desprender-se do glicerol, atinge o fígado e participa do ciclo da alanina-glicose. O glicerol plasmático pode ser captado pelo fígado e fosforilado em glicerol 3-fosfato ou ser oxidado para fosfato de diidroxiacetona, o qual entra tanto pela via glicolítica como neoglicolítica (MAUGHAN et al., 2000), posteriormente fornecendo aumento da concentração da glicose sérica, e da mesma forma, níveis elevados de AGL circulantes inibem a oxidação dessa glicose.

No exercício agudo há um aumento da mobilização dos estoques de gordura do organismo, para utilização como fonte de energia. Assim, os níveis de gordura e seus derivados tendem a aumentar (BROTMAN; GIROD, 2002). Os resultados do presente estudo demonstram que o grupo treinado apresenta valores de AGL significativamente maiores que os do grupo controle. Os animais treinados otimizaram a utilização de AGL para produção de glicose e, portanto apresentam aumento na concentração sérica. A maior utilização deste substrato pode estar relacionada a possíveis adaptações que o treinamento aeróbio gerou no metabolismo

Motriz, Rio Claro, v.13, n.1, p.07-13, jan./mar. 2007

de lipídeos.

No exercício agudo a utilização do glicogênio como substrato energético tende a diminuir com o aumento da duração do trabalho. Em animais treinados, o glicogênio é poupado com a utilização do AGL. Essa economia pode ocorrer em função do ciclo glicose-ácidos graxos (LUCIANO; LIMA, 1997). Nossos resultados mostram que para o protocolo de treinamento aplicado, essas adaptações somente ocorreram no glicogênio hepático. Estudos prévios obtiveram resultados semelhantes utilizando como carga 5 a 8% do peso corporal (FLUCKEY et al., 1996, LEME et al., 2007), contudo quando a carga é reduzida para 2% este resultado não foi observado (LUCIANO; MELLO, 1998).

Os resultados do glicogênio muscular do presente estudo indicaram valores numericamente superiores do GT ($0,358 \pm 0,167$ mg/100mg) em relação ao GC ($0,277 \pm 0,190$ mg/100mg), porém as diferenças não foram significantes. O glicogênio muscular é um importante substrato metabólico para sustentação do exercício prolongado. A intensidade do exercício agudo pode ter influenciado na mobilização do glicogênio. Romijn et al. (2000), investigando os efeitos de diferentes intensidades de exercício encontraram menores taxas de oxidação dos carboidratos em exercício de baixa intensidade (25% do VO_2 máx) quando comparados com intensidade elevada (65 e 85% do VO_2 máx.).

Por outro lado o glicogênio hepático apresentou maiores valores no grupo treinado quando comparados ao controle. Estudos prévios demonstraram que o treinamento físico pode favorecer o acúmulo de glicogênio hepático (GOBATO, 1993; MURAKAMI et al., 1997; LUCIANO; MELLO, 1998; GOMES, 2002) em conformidade com os resultados obtidos neste estudo. Esse acúmulo decorre de uma alteração no padrão de mobilização dos substratos energéticos pelo organismo.

Conclusão

A partir dos resultados obtidos fica evidenciado que, em ratos, o treinamento físico altera os padrões de mobilização de substratos após exercício agudo, favorecendo a utilização de gorduras frente ao exercício agudo.

Referências

AOKI, M. S.; SEELANDER, M. C. L. Suplementação lipídica para atividades de "endurance". *Rev. Paul. Educ. Fís.*, São Paulo, v.13, n.2, p.230-38, 1999.

BROTMAN, D. J.; GIROD, J. P. The metabolic syndrome: a tug of war with no winner Cleve. **Clin. J. Sport Med.**, New York, v.69, p.990-94, 2002.

CONLEE, R. K. Muscle glycogen and exercise endurance: a twenty-years perspective. **Exerc. Sports Sci. Rev.**, New York, v.15, p.1-28, 1987.

DAWSON-SAUDERS, B.; TRAPP, R. G. **Basic and clinical biostatistic**. Connecticut: Appleton and Lange, 1994.

DUBOIS, B.; GILLES, K. A.; HAMILTON, J. K.; REBERS, P. A. Colorimetric method for determination of sugar and related substances. **Anal. Chem.**, Washington, v.28, p.350-56, 1956.

FLUCKEY, J. D.; VARY, T. C.; JEFFERSON, L. S.; FARRELL, P. A. Augmented insulin action on rates of protein synthesis after resistance exercise in rats. **Am. J. Physiol.**, Baltimore, v.270, p.E313-9, 1996.

GOBATTO, C. A. **Alterações metabólicas decorrentes do treinamento físico em ratos previamente desnutridos e recuperados**. 122 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) – Instituto de Biociências, UNICAMP, Campinas, 1993.

GOBATTO, C. A.; MELLO, M. A. R.; SIBUYA, C. Y.; AZEVEDO, J. R. M.; LUCIANO, E.; KOKUBUN, E. Maximal lactate steady state in rats submitted to swimming exercise. **Comp. Biochem. Physiol. Part A.**, Elmsford, v.130, p.20-27, 2001.

GOMES, R. J. **Influências do treinamento físico sobre os aspectos endócrinos e metabólicos relacionados ao crescimento de ratos diabéticos experimentais**. 2002. 77 f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Motricidade – Biodinâmica da Motricidade Humana) – Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2002.

LANCHA JUNIOR, A. H.; RECCO, M. B.; ABDALLA, D. S.; CURI, R. Effect of aspartate, asparagine, and carnitine supplementation in the diet on metabolism of skeletal muscle during a moderate exercise. **Physiol. Behav.**, Oxford, v.57, n.2, p.367-71, 1995.

LEME, J. A. C. A.; GOMES, R. J.; MELLO, M. A. R.; LUCIANO, E. Effects of short-term physical training on the liver IGF-I in diabetic rats. **Growth Factors**, Chur, v.25, n.1, p.9-14, 2007.

LOWRY, O. H.; ROSEBROUGH, N. J.; FARR, A. L.; RANDALL, R. T. Protein measurement with the felimphenol reagent. **J. Biol. Chem.**, Bethesda, v.193, p.265-75, 1951.

LUCIANO, E.; LIMA, F. B. Metabolismo de ratos diabéticos treinados submetidos ao jejum e ao exercício agudo. **Rev. Ci. Biom.**, Marília, v.18, p.47-60, 1997.

LUCIANO, E.; MELLO, M. A. R. Atividade física e metabolismo de proteínas em músculo de ratos diabéticos experimentais. **Rev. Paul. Educ. Fís.**, São Paulo, v.12, n.2, p.202-209, 1998.

MANCHADO, F. B.; GOBATTO, C. A.; CONTARTEZE, R. V. L.; PAPOTI, M.; MELLO, M. A. R. Máxima fase estável de lactato é ergômetro-dependente em modelo experimental utilizando ratos. **Rev. Bras. Med. Esporte**, São Paulo, v.12, n.5, p.259-262, 2006.

MAUGHAN, R.; GLEESON, M.; GREENHAFF, P. L. **Bioquímica do exercício e do treinamento**. São Paulo: Manole, 2000.

McARDLE, W. D.; KATCH, F. L.; KATCH, V. Transferência de energia no exercício. In: _____; _____. **Fisiologia do exercício: energia, nutrição e desempenho humano**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1992. p.80-93.

MURAKAMI, T.; SHIMOMURA, Y.; FUJITSUKA, N.; SOKABE, M.; OKAMURA, K.; SAKAMOTO, S. Enlargement of glycogen store in rat liver and muscle by fructose-diet intake and exercise training. **J. Appl. Physiol.**, Bethesda, v.82, n.3, p.772-775, 1997.

NOGUEIRA, D. M.; STRUFALDI, B.; HIRATA, M. H.; ABDALLA, D. S. P.; HIRATA, R. D. C. **Métodos de bioquímica clínica: técnica e interpretação**. São Paulo: Pancasat, 1990.

PUTMAN, C. T.; JONES, N. L.; HULTMAN, E.; HOLLIDGE-HORVAT, M. G.; BONEN, A.; McCONACHIE, D. R.; HEIGENHAUSER, G. J. F. Effects of short-term submaximal training in humans on muscle metabolism in exercise. **Am. J. Physiol.**, Baltimore, v.275, n.38, p.E132-E139, 1998.

RANDLE, P. J.; GARLAND, P. B.; HALES, C. N.; NEWSHOLME, E. A. The glucose and fatty acid cycle: its role in insulin sensitivity and the metabolic disturbance of diabetes mellitus. **Lancet**, London, v. 1, p. 785-789, 1963.

REGOW, B. J. M.; CORNELISSEM, P. J. H.; HELDER, R. E. P.; SPIJKERS, J. B. F.; WEEBER, Y. M. M.; Specific determination of free fatty acid in plasma. **Clin. Chim. Acta**, Amsterdam, v.31, p.187-95, 1971.

ROGATTO, G. P. Perfil metabólico durante o exercício físico: influência da intensidade e da duração do esforço sobre a utilização de substratos energéticos. **Lecturas: EF y Deportes: Revista Digital**, Buenos Aires, v.8, n.54, nov., 2002. Disponível em: <<http://www.efdeportes.com/efd54/metab.htm>>. Acesso em: 20 mar. 2006.

ROMIJN, J. A.; COYLE, E. F.; SIDOSSIS, L. S.; ROSENBLATT, J.; WOLFE, R. R. Substrate metabolism during different exercise intensities in endurance-trained women. **J. Appl. Physiol.**, Bethesda, v.88, p.1707-1714, 2000.

SNYDER, A. C. Overtraining and glycogen depletion hypothesis. **Med. Sci. Sports Exerc.**, Hagerstown, v.30, n.7, p.1146-50, 1998.

TSINTZAS, K.; WILLIAMS, C. Human muscle glycogen metabolism during exercise: effect of carbohydrate supplementation. **Sports Med.**, Auckland, v.25, n.1, p.7-23, 1998.

Agradecimentos: Os autores são gratos à assistência técnica laboratorial de Clarice Yoshiko Sibuya, José Roberto Rodrigues e Eduardo Custódio.

Endereço para contato:
Profa. Dra. Eliete Luciano
Av. 24^A 1515 Bela Vista
Rio Claro SP
13506-900
Telefone: (19) 35264320
Fax: (19) 35264321
e-mail: rafersil@yahoo.com

Recebido em: 13 de fevereiro de 2007.

Aceito em: 13 de junho de 2007.