

# EFEITO DE DOZE SEMANAS CONTÍNUAS E COM AFASTAMENTO A UM PROGRAMA DE TREINAMENTO DE NATAÇÃO SOBRE AS CONCENTRAÇÕES DE GLICOSE E AGL EM RATOS

## EFFECTS OF TWELVE WEEKS CONTINUOUS AND WITH REMOVAL TIME OF SWIMMING TRAINING PROGRAM ON GLUCOSE AND FFA CONCENTRATIONS IN RATS

Patricia Chimin\*  
Gustavo Gomes de Araújo\*\*  
Fúlvia de Barros Manchado Gobatto\*\*  
Cláudio Alexandre Gobatto\*\*

### RESUMO

O objetivo do estudo foi verificar se as concentrações de glicose e ácidos graxos livres (AGL) sofrem modificações após um programa de treinamento de 12 semanas sem pausa e com pausa de três, seis e nove dias em ratos Wistar submetidos a natação. Foram utilizados 57 animais, divididos aleatoriamente em grupo sedentário (GS), treinado (GT), destreinado três dias (GD3), destreinado seis dias (GD6) e destreinado nove dias (GD9). Não foram encontradas diferenças significativas entre os grupos em relação à glicose, assim como na concentração de AGL (glicose – GS: 192 (150 – 233); GT: 171 (161 – 216); GD3: 202 (158 – 214); GD6: 155 (124 – 191); GD9: 163 (149 – 207); AGL – GS: 596 (410 – 1110); GT: 851 (577 – 979); GD3: 400 (233 – 733); GD6: 404 (372 – 712); GD9: 392 (246 – 698). Também não foram encontradas correlações entre as concentrações. A partir dos resultados, pode-se concluir que nem o treinamento nem o afastamento deste causam efeitos benéficos, assim como não causam efeitos deletérios na concentração de glicose e AGL de ratos Wistar).

**Palavras-chave:** Treinamento. Destreinamento. Natação.

### INTRODUÇÃO

O padrão de mobilização de substratos energéticos no exercício pode ser caracterizado como uma seqüência de três fases, cujos substratos energéticos predominantes são o glicogênio muscular, a glicose e os ácidos graxos livres (AGL) circulantes (BURKE; GOLLIER; BEASLEY; DAVIS; FICKER; HEELEY., 1995).

Uma das metas mais importantes para os atletas é conseguir, através da dieta diária, prover ao músculo substratos para “alimentar” o programa de treinamento. A gordura corporal e os estoques de carboidratos liberam as maiores fontes de energia para o exercício. Enquanto fontes de gorduras (AGL derivadas do tecido adiposo e triglicérides intramusculares) são

relativamente abundantes; fontes de carboidratos (glicose plasmática derivada do fígado ou da ingestão diária de carboidratos, e estoques de glicogênio muscular) são limitadas (COYLE, 2004). De fato, a disponibilidade de carboidratos como substrato para o músculo e para o sistema nervoso central torna-se um fator limitante na *performance* de sessões prolongadas (>90 minutos) de exercícios submáximo ou intermitente de alta intensidade.

A produção hepática de glicose pode aumentar em até cinco vezes durante o exercício em relação à condição de repouso (WAHREN; FELIG; AHLBORG; JORFELDT, 1971). Grande parte desta produção ocorre nos instantes iniciais do exercício via glicogenólise, passando a predominar a gliconeogênese à medida que o exercício prossegue (McARDLE;

\* Grupo de Estudo das Adaptações Fisiológicas ao Treinamento– GEAFFIT, Universidade Estadual de Londrina - Londrina, PR.

\*\* Departamento de Educação Física, Instituto de Biociências - Unesp Rio Claro - SP.

KATCH, F.I; KATCH, V., 2003). Ao longo do exercício, a queda no quociente respiratório indica que há diminuição da oxidação de carboidratos, resultando no aumento paralelo da oxidação de lipídios. A concentração de AGL circulante aumenta de três a cinco vezes devido à intensa atividade lipolítica, aumentando a captação muscular deste substrato ao mesmo tempo em que a concentração de lactato circulante e a taxa de utilização de glicogênio muscular diminuem, sugerindo que, quando utilizados, lipídios e carboidratos estão estreitamente relacionados (ENOKSSON; HAGSTROM-TOFT; NORDAHL; HULTENBY; et al., 2005).

Quando não há necessidade imediata de glicose para energia, a glicose adicional que penetra continuamente nas células é armazenada sob a forma de glicogênio, ou convertida em gordura. A glicose é, de preferência, armazenada como glicogênio até que as células tenham armazenado o máximo possível. Quando as células de armazenamento de glicogênio (principalmente as células hepáticas e musculares) se aproximam do nível de saturação do glicogênio, a glicose adicional é convertida em gordura no fígado e nas células adiposas.

Randle; Garland; Hales e Newsholme. (1963) procuraram estabelecer uma relação causal entre o aumento da oxidação de lipídios e a diminuição da oxidação de carboidratos. Utilizando-se de coração perfundido, esses autores verificaram que no miocárdio a adição de ácidos graxos ou corpos cetônicos inibia a captação e oxidação da glicose. Ainda de acordo com Randle (1998), um dos componentes essenciais para isso seria que a relação entre o metabolismo da glicose e dos ácidos graxos livres é recíproca.

Roden (2004), em sua revisão, conclui que estudos com humanos demonstram claramente que o AGL inibe diretamente os transportadores de glicose e sua fosforilação no músculo esquelético, o qual é responsável pela disposição de glicose sob condições de estimulação de insulina e para captação de glicose sob condições de resistência a insulina.

Sabe-se que conforme aumenta a intensidade do exercício, diminui-se a oxidação dos AGLs, devido ao insuficiente fluxo sanguíneo e à entrega de albumina insuficiente

para transportar os AGLs dos adipócitos para a circulação sistêmica, assim também como já é bem estabelecido que, conforme o exercício prossegue e há diminuição das reservas de glicogênio, ocorre uma maior dependência da glicose plasmática (COYLE, 1995). Porém, ainda não se verificou qual é o comportamento dessas variáveis quando o exercício é interrompido por algum tempo, simulando períodos de destreinamento.

A partir dessas evidências, o estudo teve como objetivo verificar se as concentrações de glicose e AGL são influenciadas após um programa de treinamento de natação de 12 semanas contínuas e com afastamento de 3, 6 e 9 dias ao treinamento em ratos Wistar.

## METODOLOGIA

### Amostra

Foram utilizados 57 ratos machos da linhagem Wistar, com idade inicial de 60 dias. Os ratos foram mantidos em gaiolas coletivas (cinco ratos por gaiola) em uma sala com ciclo claro/escuro de 12/12 h e temperatura de 25°C. Os ratos receberam ração comercial própria para roedores e água *ad libitum*.

Os experimentos seguiram as resoluções brasileiras específicas de bioética de pesquisa com animais: Lei n. 6.638, de 8 de março de 1979, e Decreto n. 645, de 10 de julho de 1945.

Os animais foram divididos aleatoriamente em cinco grupos: grupo sedentário (GS), grupo treinado (GT) grupos destreinados por três (GD3), seis (GD6) e nove dias (GD9 - os quais foram submetidos a um protocolo de 12 semanas, como se segue.

Os 14 (catorze) ratos do grupo sedentário (GS) adaptados ao meio líquido foram submetidos a esforços na água por dois dias a cada semana. Cada esforço foi realizado por um período de dois minutos a uma intensidade equivalente a 80% da carga crítica (Ccrit). Esse procedimento foi adotado apenas para a manutenção da adaptação dos ratos ao meio líquido.

Os 12 (doze) ratos do grupo treinado (GT) realizaram treinamento contínuo de natação seis dias por semana, de 60 minutos cada sessão, em uma intensidade equivalente a 80% da Ccrit.

Os grupos destreinados por três (GD3), seis (GD6) e nove dias (GD9) foram formados por 11, 9 e 11 ratos, respectivamente, e após cinco semanas de treinamento utilizando os mesmos protocolos do GT, cada grupo de animais afastou-se, respectivamente, por três (GD3), seis (GD6) e nove (GD9) dias do treinamento proposto. Essas cinco primeiras semanas foram padronizadas para que todos os animais tivessem as mesmas chances de apresentar as adaptações ao treinamento. Após esse período de afastamento, os ratos voltaram à rotina de treinamento até completar as 12 semanas de protocolo experimental.

O controle do treinamento foi realizado com a aplicação do teste de Ccrit a cada duas semanas e meia para ajuste de cargas. Na semana em que havia a aplicação dos testes, a frequência de treinamento dos animais foi de quatro dias.semana<sup>-1</sup>. Após as doze semanas de execução do protocolo, os animais foram sacrificados sob efeito de anestésico (4mg/100g p.c., i.p), em condição de repouso, e amostras de sangue foram retiradas da veia cava inferior para a análise das concentrações séricas de glicose e ácidos graxos livres (AGLs).

#### Adaptação ao meio líquido

Todos os ratos foram submetidos à adaptação ao meio líquido (31 ± 1°C) por um período de quatro dias, suportando cargas de 2% do peso corporal (PC) por dois minutos/dia<sup>-1</sup> em tanque cilíndrico profundo medindo 60 x 120cm.

#### Intensidade do treinamento - Carga Crítica (Ccrit)

A intensidade do treinamento foi controlada pelo teste de Ccrit ao longo das semanas de treinamento. O protocolo foi composto por quatro nados em intensidades distintas, suportando cargas contínuas (C) equivalentes a 9, 11, 13 e 15% do PC atadas ao dorso até à exaustão. A exaustão dos animais foi definida como a não-manutenção da atividade na água por 10 segundos e mudança abrupta no padrão de movimento da natação. Os testes foram realizados em apenas dois dias consecutivos, sendo uma carga realizada pela manhã e outra à tarde, em cada dia. Para cada carga (C expressa em % do peso corporal) houve o registro, em segundos, do tempo individual de exaustão

(tlim). As cargas foram selecionadas de acordo com teste padronizado por Marangon *et al.* (2002). A Ccrit foi determinada na relação intensidade do exercício pelo tempo de exaustão (tlim) através da hipérbole  $C = Ccrit + CTA/tlim$ . Para o estabelecimento da Ccrit foi utilizado o ajuste linear da hipérbole ( $Cx1/tlim$ ), no qual a Ccrit foi equivalente ao y-intercepto (HILL, 1993).

#### Análise das concentrações séricas de glicose e AGL

A glicose foi determinada pelo método enzimático (glicose oxidase), tendo como reativo o fenol 2,5mM, 4 (p-benzoquinona monoimino) fenzona 1, 14 mM, tampão Tris 0,04mM, glicose oxidase 2,7 U/ml e peroxidase 0,33 U/ml. O ensaio foi incubado por 15 minutos em banho a 37°C. As absorbâncias da amostra e do padrão foram lidas em espectrofotômetro a 505 nm (HENRY, 1974).

Os ácidos graxos livres foram analisados pelo método enzimático colorimétrico, com Kit Laborlab. Após 15 e 10 minutos (respectivamente) de incubação em banho A 37°C, as absorbâncias das amostras e do padrão foram lidas em espectrofotômetro a 505 nm.

#### Análise estatística

A normalidade dos dados foi verificada pelo teste de *Shapiro-Wilk*. Para verificar as diferenças entre as concentrações de glicose e AGL nos diferentes grupos foi utilizado o teste de *Kruskall-Wallis*. O coeficiente de correlação de Spearman foi utilizado para verificar a correlação entre os valores de glicose e de AGL entre os grupos. Um valor de  $P < 0,05$  foi considerado estatisticamente diferente. Os dados estão apresentados como mediana, 1° e 3° quartis. O *software* utilizado foi o SPSS 13.0 *for Windows*.

## RESULTADOS

Na tabela 1 estão representados os valores de mediana, 1° e 3° quartis das concentrações de glicose e AGL séricas, encontrados nos cinco diferentes grupos ao final das doze semanas. Não foram encontradas diferenças significativas entre os grupos em relação à concentração de glicose, assim como na concentração de AGLs.

Também não foram encontradas correlações entre as concentrações de glicose e AGL entre

os grupos e em relação aos valores totais.

**Tabela 1.** Indicação dos valores de mediana (1° e 3° quartis) das concentrações de glicose (mg/dL) e ácidos graxos livres (uEq/L).

	GS	GT	GD3	GD6	GD9
Glicose	192 (150 – 233)	171 (161 – 216)	202 (158 – 214)	155 (124 – 191)	163 (149 – 207)
AGL	596 (410 – 1110)	851 (577 – 979)	400 (233 – 733)	404 (372 – 712)	392 (246 – 698)

Todos os coeficientes de correlação de Spearman realizados entre os valores de glicose e AGL dos cinco grupos apresentaram correlações muito fracas, mostrando que não houve associação entre esses valores (Tabela 2).

**Tabela 2.** Coeficientes de correlação de Spearman (r) entre os valores de glicose e AGL referentes aos grupos GS, GT, GD3, GD6 e GD9, obtidos após as doze semanas de treinamento.

	GS	GT	GD3	GD6	GD9
glicose x AGL	0,24	0,37	0,15	0,30	0,38

As tabelas 3 e 4 apresentam as diferenças (%) nos valores de glicose e AGL, respectivamente, encontrados entre os grupos.

**Tabela 3.** Diferenças (%) nos valores encontrados para a glicose entre os grupos.

	GS	GT	GD3	GD6	GD9
GS	0	7	2,7	20,1	11,6
GT		0	4,7	14	4,9
GD3			0	17,9	9,1
GD6				0	10,6
GD9					0

**Tabela 4.** Diferenças (%) nos valores encontrados para os AGLs entre os grupos.

	GS	GT	GD3	GD6	GD9
GS	0	4	39,4	29,5	36,5
GT		0	41,8	32,2	38,9
GD3			0	16,3	4,8
GD6				0	9,9
GD9					0

## DISCUSSÃO

A análise das amostras bioquímicas não apresentou diferenças significativas entre as concentrações de glicose entre todos os grupos.

O mesmo resultado também foi encontrado para os valores de AGL entre os grupos.

Pela hipótese de Randle, Garland, Hales e Newsholme (1963), há uma relação causal entre o aumento da oxidação dos lipídios e a diminuição da oxidação dos carboidratos. Dessa forma, pode-se verificar que nos grupos treinados houve tendência de aumento nos valores de AGLs em relação aos valores de glicose. Já no grupo sedentário, os altos valores de glicose e AGL podem ser devidos ao maior peso desses animais e ao sedentarismo, uma vez que, segundo Mittendorfer et al., (2004), a disponibilidade de AGL está relacionada com a massa corporal de gordura.

O GD6 apresentou os menores valores de glicose, mesmo esse não sendo significativo; porém foi observado que esse grupo apresentou os menores valores de tempo de nado semanal (dados não mostrados). Isso poderia ser creditado aos menores valores de glicose, pois no exercício moderado e prolongado a glicemia tende a diminuir e tem sido apontada como fator desencadeante de fadiga (BODEN et al., 1991).

Apesar de haver evidências de que as relações entre o metabolismo da glicose e o dos ácidos graxos livres são recíprocas (RANDLE et al., 1998), não foi encontrada nenhuma correlação entre os dados. Os GSs e GTs foram os únicos a mostrar tendência a essa relação recíproca, enquanto o GD6 apresentou menor valor de glicose que o GS e maiores valores de AGL. Entre os grupos treinados, a maior tendência de aumento da glicose foi do GT em relação ao GD6 (GT foi 10% maior que GD6); já em relação ao

AGL foi entre o GT em relação ao GD3 (GT foi 53% maior que GD3).

Durante o início do exercício, a energia provém das reservas de glicogênio, tanto a muscular quanto a hepática, e conforme essas reservas vão diminuindo, aumenta a dependência da glicose sanguínea. Com o término do exercício, a glicose é armazenada como glicogênio até que as células tenham armazenado o máximo possível para suprir as necessidades energéticas do organismo, sendo que esse processo ocorre em torno de 24 horas após o exercício (GOFORTH; LAURENT; PRUZACZYK; SCHNEIDER et al., 2003). Como o sacrifício desses animais ocorreu num período de 24 horas depois da última sessão de exercício, esses valores circulantes de glicose são independentes da reserva de glicogênio (pois elas já estavam repletas), e essa glicose adicional poderia ser usada para a conversão em gordura no fígado e nas células.

Segundo Coyle (1995), uma das hipóteses para a diminuição do aparecimento dos AGLs conforme aumenta a intensidade do exercício, é a baixa entrega de albumina para o transporte do tecido adiposo para a circulação sistêmica. Não foi encontrada diferença entre os valores de albumina desses animais (dados não mostrados), o que descarta que essa tenha sido uma das possíveis causas de não haver diferença entre os valores de AGLs dos diferentes grupos.

Mesmo com essas evidências, o fato de não haver diferença entre os grupos pode se dever a que o tempo de retreinamento após 3, 6 e 9 dias de afastamento foi suficiente para normalizar qualquer possível modificação que possa ter ocorrido por causa desse tempo de afastamento.

Apesar de alguns autores indicarem que o uso de anestésicos pode causar

hiperglicemia, não só pelo estresse da administração, mas também pela diminuição do uso de glicose pelos tecidos (PÉNICAUD; FERIÉ; KANDE; LETURQUE et. al., 1987; PÉREZ-LLAMAS; ZAMORA; ROSIQUE; SASTRE, 1992), esse efeito pode não ter influenciado os resultados, pois todos os grupos foram eutanasiados da mesma forma e com a mesma dosagem de anestésico, sendo as diferenças encontradas, bem como as não encontradas, resultantes dos regimes de treinamento adotados.

O presente trabalho apresenta algumas limitações. Uma delas é que o sacrifício dos animais foi realizado após um período de retreinamento, o que pode ter mascarado alguma adaptação. Talvez, se os animais tivessem sido sacrificados logo após os dias de afastamento, poderia ter sido identificada alguma diferença entre os grupos. Outra limitação é que não foi verificada a ingestão alimentar dos animais, o que, se feito, proporcionaria uma comparação mais direta dos dados. Por essa razão, mais estudos englobando esse assunto devem ser realizados, atentando-se para não repetir as mesmas limitações do presente estudo.

## CONCLUSÃO

Dessa maneira, pode-se concluir que tanto o treinamento contínuo quanto o afastamento dele não causam efeitos benéficos, assim como não causam efeitos deletérios na concentração de glicose e de AGL de ratos Wistar.

## AGRADECIMENTOS

À FAPESP, pela concessão de bolsa de estudos em nível de iniciação científica para o primeiro autor do trabalho (processo 05/54820-2).

---

### EFFECTS OF TWELVE WEEKS CONTINUOUS AND WITH REMOVAL TIME OF SWIMMING TRAINING PROGRAM ON GLUCOSE AND FFA CONCENTRATIONS IN RATS

#### ABSTRACT

The aim of the study was to verify if the glucose and free fatty acids (FFA) concentrations suffer changes after a 12 weeks swimming training period with no breaks and with three, six and nine days break of the training. Fifty-seven rats were randomly divided in five groups: sedentary (GS), training (GT), three days of detraining (GD3), six days of detraining (GD6)

and nine days of detraining (GD9). There was no significant difference among the groups on glucose and FFA concentrations (glucose – GS: 192 (150 – 233); GT: 171 (161 – 216); GD3: 202 (158 – 214); GD6: 155 (124 – 191); GD9: 163 (149 – 207); FFA – GS: 596 (410 – 1110); GT: 851 (577 – 979); GD3: 400 (233 – 733); GD6: 404 (372 – 712); GD9: 392 (246 – 698). Also, no correlations were found between the concentrations too. Based on the results, we conclude that continuous training and the break in training do not cause benefits neither bad effects on the concentration of glucose and FFA in Wistar rats.

**Key words:** Training. Detraining. Swimming.

## REFERÊNCIAS

- BODEN, G.; JADALI, F.; WHITE, J.; LIANG, Y.; MOZZOLI, M.; CHEN, X.; COLEMAN, E.; SMITH, C. Effects of fat on insulin-stimulated carbohydrate metabolism in normal men. *Journal of Clinical Investigation*, Oxford, GB, no. 88, p. 960-966, 1991.
- BURKE, L. M.; GOLLIER, G. R.; BEASLEY, S. K.; DAVIS, P. G.; FICKER, P. A.; HEELEY, P. et al. Effect of coingestion of fat and protein with carbohydrate feedings on muscle glycogen storage. *Journal of Applied Physiology*, Bethesda, MD, v. 78, p. 2187-2192, 1995.
- COYLE, E. F. Fluid and fuel intake during exercise. *Journal of Sports Science*, Oxfordshire v. 22, p. 39-55, 2004.
- COYLE, E. F. Substrate utilization during exercise in active people. *American Journal of Clinical Nutrition*, New York, v. 61, p. 9687-9795, 1995. Suppl.
- ENOKSSON, S.; HAGSTROM-TOFT, E.; NORDAHL, J.; HULTENBY, K. et al. Marked reutilization of free fatty acids during activated lipolysis in human skeletal muscle. *Journal of Clinical Endocrinology Metabolism*, Bethesda, no. 90, p. 1189-1195, 2005.
- GOFORTH, H. W.; LAURENT, D.; PRUZACZYK, W. K.; SCHNEIDER, K. E. et al. Effects of depletion exercise and light training on muscle glycogen supercompensation in men. *American Journal of Physiology*, Baltimore, Endocrinology and Metabolism. v. 285, p. E1304-1311, 2003.
- HENRY, R. J., CANNON, D. C., WINKELMANN, J. W. *Clinical Chemistry Principles and Techniques*. 2. ed. New York, Harper & Row, 1974.
- MARANGON, L.; GOBATO, C. A.; MELLO, M. A. R.; KOKUBUN, E. Utilization of an hyperbolic model for the determination of critical load in swimming rats. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, Hagerstown, v. 34, n. 5, p. S149-S149, 2002.
- McARDLE, W. D.; KATCH, F. I.; KATCH, V. *Fisiologia do Exercício: energia, nutrição e desempenho humano*. 5. ed. Editora Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 2003.
- MITTENDORFER, B.; FIELDS, D. A.; KLEIN, S. Excess body fat in men decreases plasma fatty acid availability and oxidation during endurance exercise. *American Journal of Physiology Endocrinology and Metabolism*, Bethesda, v. 287, no. 6, p. E1076-E1081, 2004.
- PÉNICAUD, L.; FERIÉ, P.; KANDE, J.; LETURQUE, A. et al. Effect of anesthesia on glucose production and utilization in rats. *The American Journal of Physiology*, v. 252, no. 3, p. E365-E369, 1987. Parte 1.
- PÉREZ-LLAMAS, F.; ZAMORA, S.; ROSIQUE, M. J.; SASTRE, J. F. Effects of inhalation of ethyl-ether on glycemia and some variable of intermediate metabolism in rats. *Archives Internationales de Physiologie, de Biochimie et de Biophysique*, Netherlands, v. 5, no. 100, p. 335-337, 1992.
- RANDLE, P. J. Regulatory interactions between lipids and carbohydrates: the glucose fatty acid cycle after 35 years. *Diabetes/metab. rev.*, New York, no. 14, p. 263-283, 1998.
- RANDLE, P. J.; GARLAND, P. B.; HALES, C. N.; NEWSHOLME, E. A. The glucose fatty acid cycle. Its role in insulin sensitivity and the metabolic disturbances of diabetes mellitus. *Lancet*. 785-789, 1963.
- RODEN, M. How free fatty acids inhibit glucose utilization in human skeletal muscle. *News Physiology Science*. no. 19, p. 92-96, 2004.
- WAHREN, J.; FELIG, P.; AHLBORG, G.; JORFELDT, L. Glucose metabolism during leg exercise in men. *Journal of Clinical Investigation*, New York, no. 50, p. 2715-2725, 1971.

Recebido em 31/08/07  
Revisado em 23/11/07  
Aceito em 03/03/08

**Endereço para correspondência:** Patricia Chimin. Rua General Glicério, 378 – Vila Nova, CEP 13320-000, Salto-SP.  
E-mail: patriciachimin@yahoo.com.br