

Treinamento em Natação com Baixa Intensidade Não Protege Músculo Esquelético Contra Lesões Induzidas por Exercício Exaustivo em Ratos



Low-Intensity Swimming Training does not Protect the Skeletal Muscle Against Exhaustive Exercise-Induced Injuries in Rats

Edson da Silva^{1,2}

Izabel Regina dos Santos Costa
Maldonado¹

Sérgio Luís Pinto da Matta¹

Giselle Carvalho Maia¹

Luiz Henrique Marchesi Bozi¹

Karina Ana da Silva³

Cynthia Aparecida Castro³

Antônio José Natali³

1. Departamento de Biologia Geral.
Universidade Federal de Viçosa –
UFV – Viçosa, Minas Gerais.

2. Departamento de Ciências Básicas
da Saúde. Universidade Federal dos
Vales do Jequitinhonha e Mucuri –
UFVJM – Diamantina, Minas Gerais.

3. Departamento de Educação Física.
Universidade Federal de Viçosa –
UFV – Viçosa, Minas Gerais.

Correspondência:

Antônio José Natali

Departamento de Educação Física
Universidade Federal de Viçosa

UFV - Rua P.H. Rolfs, s.n - 36570 000

Viçosa - MG - Brasil

E-mail: anatali@ufv.br

RESUMO

Enquanto o exercício aeróbico regular promove adaptações benéficas ao músculo esquelético, o exercício físico exaustivo induz lesões musculares. O objetivo deste estudo foi verificar se um programa de natação com baixa intensidade é capaz de proteger músculos esqueléticos contra lesões induzidas por exercício exaustivo. Ratos Wistar (peso: $376,50 \pm 4,36$ g; idade: 90 dias) foram divididos aleatoriamente em quatro grupos: controle sedentário (CS); sedentário submetido a teste de exaustão (SE); treinado em natação (TN); treinado em natação submetido a teste de exaustão (TNE). Animais dos grupos TN e TNE foram submetidos a um programa de natação sem sobrecarga por 90 minutos/dia, cinco dias/semana, durante 17 semanas. Após este período, os grupos SE e TNE foram submetidos a um teste de exaustão em natação. Após eutanásia, fragmentos dos músculos sóleo e reto femoral foram coletados e submetidos à análise histológica e de proteínas de choque térmico (HSP70). Os resultados mostraram que o tempo até a exaustão foi maior no grupo TNE que no SE ($125,0 \pm 6,0$ vs. $90,0 \pm 8,5$ min, respectivamente, $P < 0,05$). Os níveis de lactato sanguíneo durante o teste e exaustão foram menores no grupo TNE que no SE ($5,31 \pm 0,22$ vs. $8,76 \pm 0,59$ mmol/L, respectivamente, $P < 0,05$). A frequência de fibras lesadas nos músculos foi maior nos grupos SE (sóleo: $34,86 \pm 0,04$; reto femoral: $37,57 \pm 0,07$) e TNE (sóleo: $41,57 \pm 0,08$; reto femoral: $39,57 \pm 0,05$), comparada aos grupos CS (sóleo: $13,88 \pm 0,81$; reto femoral: $16,75 \pm 0,79$) e TN (sóleo: $24,14 \pm 0,06$; reto femoral: $24,0 \pm 0,05$), respectivamente ($P < 0,05$). Não houve diferença significativa nos níveis de HSP70 dos músculos analisados entre os quatro grupos. Concluímos que apesar do treinamento em natação melhorar o desempenho dos animais no teste de exaustão, não promoveu proteção aos seus músculos esqueléticos contra as lesões induzidas pelo exercício exaustivo.

Palavras-chave: HSP70, exercício físico, dano muscular.

ABSTRACT

While regular aerobic exercise promotes beneficial adaptations to the skeletal muscle, acute exhaustive exercise causes structural damage to the skeletal muscle cells. The aim of this study was to verify whether a low-intensity swimming program protects the skeletal muscles against damage induced by exhaustive exercise. Male Wistar rats (weight: 376.50 ± 4.36 g; age: 90 days) were randomly divided into four groups: sedentary control (SC, N=8); sedentary submitted to exhaustive test (SE, N=7); swimming trained (TN, N=7); swimming trained submitted to exhaustive test (TNE, N=7). Animals of TN and TNE groups were submitted to a swimming regimen without overload for 90 min/day, 5 days/wk, during 17 weeks. Forty-eight hours after the last training session, animals from SE and TNE groups were submitted to an exhaustive exercise protocol. At sacrifice, fragments of soleus and rectus femoris muscles were collected and submitted to histological analysis and heat shock protein (HSP70) expression measurement. The results showed that the time until exhaustion was greater in the STE than in SE group (125.0 ± 6.00 vs. 90.0 ± 8.48 min, respectively, $P < 0.05$). The levels of blood lactate during exhaustive exercise were lower in animals from TNE than SE (5.31 ± 0.22 vs. 8.76 ± 0.59 mmol/L, respectively, $P < 0.05$). The frequency of damaged fibers in the muscles was greater in SE (soleus: 34.86 ± 0.04 ; rectus femoris: 37.57 ± 0.07) and STE (soleus: 41.57 ± 0.08 ; rectus femoris: 39.57 ± 0.05), compared to groups SC (soleus: 13.88 ± 0.81 ; rectus femoris: 16.75 ± 0.79) and ST (soleus: 24.14 ± 0.06 ; rectus femoris: 24.0 ± 0.05), respectively ($P < 0.05$). There was no significant difference at the HSP70 levels of the analyzed muscles among the four groups ($P > 0.05$). In conclusion, although a low-intensity swimming training increased the animals' performance in the exhaustive exercise test, it did not protect their skeletal muscles against damage induced by exhaustive exercise.

Keywords: HSP70, physical exercise, muscle damage.

INTRODUÇÃO

O exercício exaustivo pode induzir lesões nas fibras musculares^(1,2). Dentre os fatores propostos como responsáveis pelas lesões estão estresse mecânico, distúrbio na homeostase do cálcio intracelular, alteração do pH e da temperatura corporal, e resposta inflamatória^(3,4). Fatores mecânicos e oxidativos desencadeiam a lesão e alguns mediadores inflamatórios exacerbam esse quadro nos dias subsequentes ao exercício⁽⁵⁾. As fibras lesadas apresentam vacuolização citoplasmática, deslocamento dos núcleos celulares da periferia para o centro da fibra, ocorrência de núcleos picnóticos, necrose segmentar e a invasão de fagócitos^(1,2).

O estresse causado pelo exercício exaustivo pode determinar a morte celular em músculos esqueléticos por dois mecanismos distintos: necrose e apoptose⁽⁶⁾. Na necrose, há um aumento no volume total da célula e das organelas, seguindo-se a autólise, que envolve dissolução de seus subprodutos, os quais estimulam a inflamação exsudativa⁽⁷⁾. No processo de apoptose, há uma variedade de sinais intra e extracelulares que regulam a expressão de genes específicos os quais poderão expressar proteínas que iniciam a apoptose (ex.: Bax, Fas, p53) e proteínas que inibem a apoptose (ex.: Bcl2, Bcl-XL)⁽⁸⁾, assim como proteases proteicas (ex.: caspases)⁽⁹⁾.

Todavia, organismos multicelulares são dotados de um grupo de proteínas altamente conservadas, as chamadas heat shock proteins (HSPs), que auxiliam na manutenção das funções e na sobrevivência das células frente a diferentes tipos de estresse, incluindo alterações de pH e temperatura, e estresse oxidativo⁽¹⁰⁾. As famílias das HSPs com peso molecular de 70kDa (HSP 70) são encontradas no citoplasma e núcleo e compartilham a função de interagir com outras proteínas no curso da sua maturação e mantê-las no citoplasma, estabilizando e/ou prevenindo, desta forma, dobramentos prematuros até sua posterior importação pelas organelas apropriadas⁽¹¹⁾. Há evidências de que a HSP70 pode inibir a morte celular tanto pela via dependente de caspases quanto pela via independente de caspases⁽¹²⁾.

A atividade física moderada regular, em contrapartida, é capaz de aumentar a capacidade de defesa antioxidante do organismo⁽¹³⁾, assim como elevar a expressão de Hsp72, a forma induzível das HSP70^(14,15). Desta forma, o treinamento físico tem sido associado à proteção do organismo contra eventos estressantes⁽¹⁶⁻¹⁸⁾ e a atenuação de morte celular em músculos cardíaco e esquelético^(19,20). O objetivo deste estudo foi, portanto, verificar se um programa de natação com baixa intensidade é capaz de proteger os músculos esqueléticos contra lesões induzidas por exercício exaustivo.

MÉTODOS

Animais – Foram utilizados ratos (*Rattus norvegicus*, *albinus*) Wistar, adultos, com 90 dias de idade. Os animais foram alojados em gaiolas coletivas (quatro animais por gaiola), recebendo água e ração própria ad libitum e mantidos em ambiente com temperatura média de 24°C e regime de luminosidade de 12 horas de escuridão por 12 horas de claridade.

Os animais foram alocados aleatoriamente em quatro grupos com oito animais cada: controle sedentário (CS); sedentário submetido a teste de exaustão (SE); treinado em natação (TN); treinado em natação e submetido teste de exaustão (TNE). Os grupos SE, TN e TNE perderam um animal cada por motivo de afogamento.

Todos os procedimentos foram realizados de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal elaborados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), seguem as resoluções específicas (Lei nº 6.638, de 8 de maio de 1979; e Decreto nº 24.645 de 10 de julho de 1934) e foram aprovados pela comissão de ética em

experimentação animal da Universidade Federal de Viçosa.

Programa de natação – A natação foi realizada em um tanque de alvenaria (largura: 65cm, comprimento: 75cm, altura: 85cm), a altura da água a 45cm. A temperatura da água foi mantida em 30°C ± 1°C. Nadaram simultaneamente oito animais em cada tanque. O programa de treinamento foi adaptado de Bolter e Gordon⁽²¹⁾. As sessões de treinamento começaram com duração de 10 minutos, sendo aumentados 10 minutos a cada dia, chegando aos 90 minutos no nono dia, e mantidas assim até o final do experimento. O programa foi composto de uma sessão diária, cinco dias por semana, com duração de 17 semanas. Os animais nadaram livremente, sem adição de sobrecarga. Este modelo caracteriza-se como exercício aeróbico de baixa intensidade, pois os animais exercitam abaixo do limiar de lactato⁽²²⁾. Os animais do grupo SE foram colocados no tanque de natação por 10 minutos, uma vez por semana, para se familiarizarem com a água.

Teste de exaustão – Quarenta e oito horas após a última sessão de treinamento, os animais dos grupos SE e TNE foram submetidos a um teste exaustivo em natação. Os animais nadaram até a exaustão, suportando um peso de 4% do peso corporal fixo ao corpo⁽²³⁾. A exaustão foi definida como o ponto onde o rato permaneceu 10 segundos sob a superfície da água⁽²⁴⁾ e o tempo até a exaustão foi cronometrado.

Após a realização do teste de exaustão, amostras de sangue (uma gota) foram coletadas da extremidade da cauda dos animais em três momentos: antes do teste (repouso) e após 15 minutos de esforço. Para evitar diluição com a água, os animais foram rapidamente secados com uma toalha antes da coleta sanguínea. A concentração de lactato foi determinada utilizando-se o analisador automático de lactato sanguíneo Accutrend Check (Accusport, Roche).

Coleta de amostras – Quarenta e oito horas após a última sessão de treinamento, para os grupos CS e TN, e 48 horas após o teste de exaustão, para os grupos SE e TNE, os animais sofreram eutanásia (CO₂). Um músculo de contração lenta (sóleo) e um de contração rápida (reto femoral, porção branca) dos membros direito e esquerdo de cada animal foram removidos e armazenados para análise histológica e de HSP70. Para análise histológica as amostras foram fixadas em paraformaldeído a 4% em tampão fosfato 0,1M, pH 7,2-7,4. Para análise de HSP70, as amostras foram envolvidas em papel alumínio, congeladas em nitrogênio líquido e armazenadas a -80°C.

Análise morfométrica – Após desidratação, os músculos foram incluídos em hidroxietil metacrilato (Historesin® Leica) e seccionados com espessura de 4µm em micrótomo rotativo (Reichert-Jung 2045 Multicut, Alemanha). As seções obtidas foram coradas com azul de toluidina-pironina e analisadas em microscópio de luz (Olympus BX-50). A análise morfométrica foi realizada utilizando o programa de análise de imagem (Image Pro Plus, versão 4.5 para Windows 98). Determinou-se a frequência de fibras lesadas, sendo que para cada parâmetro foram capturadas 10 imagens de cada animal, utilizando-se o programa SPOT, versão 3.5.9, e objetiva com aumento de 20x e zoom de 1,25x.

Análise de HSP70 – As amostras foram retiradas do freezer e, depois de pesadas, foram maceradas para obtenção de um extrato tecidual ao qual foi adicionado o respectivo tampão (composição: 15mM Tris HCL; 600mM de NaCl; 1mM PMSF, pH 7,5). Em 60mg de extrato foram adicionados 1.200µl de tampão de extração (relação de 1:20). Em seguida, colocaram-se as amostras em Eppendorfs, as quais foram identificadas e mantidas em gelo por aproximadamente cinco minutos. Após este período de incubação, os restos celulares foram descartados por centrifugação a 14.000g, a 4°C, durante 20 minutos e o sobrenadante foi armazenado a -20° C. Os extratos de proteínas totais foram quantificados de acordo com o método de Bradford⁽²⁵⁾, utilizando-se as três réplicas preconizadas.

Eletroforese em géis de poliacrilamida (PAGE) contendo detergente dodecil sulfato sódio (SDS) foi realizada essencialmente como descrita por Laemmli⁽²⁶⁾. O extrato de proteína foi incubado por cinco minutos, a 100°C, em tampão da amostra [glicerol 10% (v/v), SDS 2,3%, azul de bromofenol 0,25%, 2-mercaptoetanol 5% (v/v) e Tris-HCl 0,0625mol/L, pH 6,8] antes de ser aplicado no gel. A eletroforese foi conduzida por aproximadamente 16 horas, a 48V, no tampão de corrida (Tris-HCl 0,025mol/L, glicina 0,2mol/L, EDTA 1mmol/L e SDS 3,5mmol/L). Este procedimento foi realizado para obtenção de três géis. Um destes foi corado com solução corante [metanol 40% (v/v), CH₃COOH 7,5% (v/v) e coomassie brilhant blue R-250 0,01%], por aproximadamente 12 horas, e descorado em solução descorante [metanol 10% (v/v) e ácido acético 7,5% (v/v)]. Os outros dois géis foram submetidos à técnica de imunoblotting, para verificar se o anticorpo Monoclonal Anti-Heat Shock Protein 70 contra HSP70 de ratos era capaz de reconhecer a proteína de interesse.

As proteínas foram transferidas para uma membrana de nitrocelulose, usando-se o sistema de transferência da Biorad (EUA), de acordo com as instruções do fabricante. Após a transferência (em aproximadamente uma hora a 0,70 amperes constantes), a membrana de nitrocelulose foi imersa em solução de bloqueio (caseína – Non-fat Dry Milk, Biorad) por uma hora. Em seguida, foram feitas quatro lavagens, por 15 minutos cada, à temperatura ambiente, com TBS-T [Tris-HCl 0,01mol/L, NaCl 1,5mmol/L, Tween-20 0,1% (v/v), pH 7,6]. A membrana foi incubada com o anticorpo Monoclonal Anti-Heat Shock Protein 70 (SIGMA), em uma diluição 1:5.000 por três horas sob agitação. Após o período de incubação, a membrana foi lavada com TBS-T quatro vezes, por 15 minutos cada e, em seguida, incubada com o anticorpo Anti-Mouse IgG (fosfatase alcalina – SIGMA), em uma diluição de 1:10.000, por aproximadamente duas horas. A membrana foi lavada extensivamente com TBS-T, novamente por quatro vezes de 15 minutos cada e, subsequentemente, incubada com tampão da enzima (Tris-HCl 0,1mol/L, pH 9,8, NaCl 0,1mol/L, MgCl₂ 0,5mol/L) por 10 minutos. A atividade da fosfatase alcalina foi detectada, usando-se os substratos NBT (azul-nitro-tetrazolium, GIBCO/BRL) e BCIP (5-bromo-4-cloro-3-indolil-fosfato, GIBCO/BRL). As bandas dos imunoblottings foram quantificadas por meio de densitometria computadorizada utilizando-se o Personal Densitometer equipado com o programa Image Quant, versão 5.2 (Molecular Dynamics – EUA).

Análise estatística – As médias referentes aos valores das variáveis foram comparadas entre os grupos por meio de análise de variância (ANOVA), seguida pelo teste de Duncan. Foi utilizado o software Statistica for Windows 3.11, sendo o nível de significância de até 5% (P < 0,05).

RESULTADOS

Os resultados mostraram que os animais treinados permaneceram exercitando por um tempo maior até a exaustão que os animais sedentários (tabela 1). A concentração de lactato sanguíneo não foi diferente entre os animais sedentários e treinados em repouso, mas aos 15 minutos a dos animais treinados foi menor que a dos sedentários. Salienta-se que durante os experimentos morreram três ratos, sendo um de cada grupo (SE, TN e TNE).

Tabela 1. Tempo até a exaustão e concentração de lactato sanguíneo dos animais dos grupos experimentais.

Grupo	Lactato repouso (mmol/L)	Lactato aos 15min. (mmol/L)	Tempo exaustão (min)
SE (n = 7)	2,86 ± 0,08	8,76 ± 0,59	90,0 ± 8,48
TNE (n = 7)	2,90 ± 0,04	5,31 ± 0,22*	125,0 ± 6,00 [#]

Os músculos analisados dos animais do grupo CS apresentaram predominância de fibras com morfologia preservada, de aspecto poligonal em corte transversal, envolvidas pelo endomísio e organizadas em fascículos envolvidos pelo perimísio (figura 1A, figura 2A). Nos outros grupos, todavia, as lesões podem ser visualizadas nas figuras 1 e 2 B, C, e D.

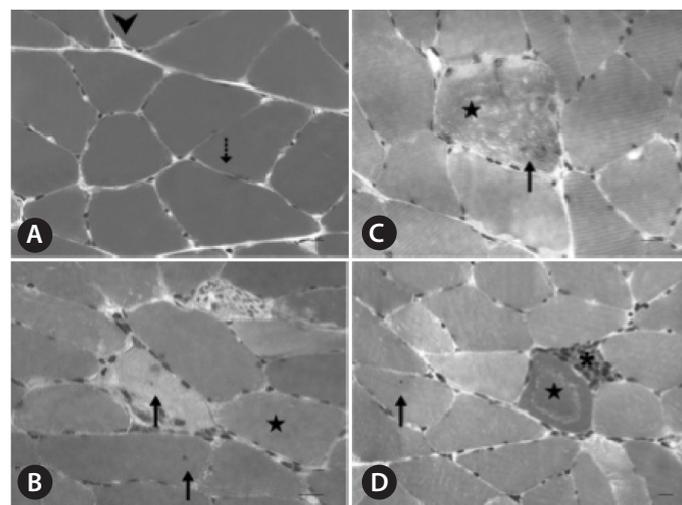


Figura 1. Microfotografias representativas de fibras do músculo sóleo de ratos Wistar, em corte transversal, coradas com azul de toluidina-pironina. A: controle sedentário; B: sedentário submetido a teste de exaustão; C: treinado em natação; D: treinado em natação submetido a teste de exaustão. Asterisco: infiltrado inflamatório; Seta: núcleos deslocados para o centro da fibra muscular; Estrela: fibras musculares com vacuolização citoplasmática; Cabeça de seta: perimísio; Seta pontilhada: endomísio. Barra: 20µm.

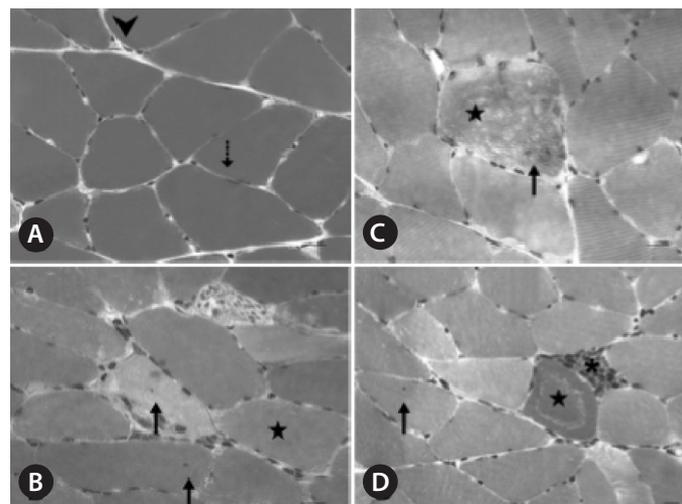


Figura 2. Microfotografias representativas de fibras do músculo sóleo de ratos Wistar, em corte transversal, coradas com azul de toluidina-pironina. A: controle sedentário; B: sedentário submetido a teste de exaustão; C: treinado em natação; D: treinado em natação submetido a teste de exaustão. Asterisco: infiltrado inflamatório; Seta: núcleos deslocados para o centro da fibra muscular; Estrela: fibras musculares com vacuolização citoplasmática; Cabeça de seta: perimísio; Seta pontilhada: endomísio. Barra: 20µm.

A frequência de lesões nos músculos sóleo e reto femoral dos animais dos grupos controles (CS e TN) não foram estatisticamente diferentes (tabela 2). Entretanto, a frequência de fibras lesadas após o teste de exaustão no grupo SE foi estatisticamente maior em relação à do grupo CS em ambos os músculos analisados. Da mesma forma, no grupo TNE a frequência de lesões foi maior que no grupo TN. Houve presença rara de infiltrados inflamatórios, mas a frequência não foi diferente entre os grupos.

Tabela 2. Frequência de fibras lesadas animais dos grupos experimentais.

Grupos	Reto femoral	Sóleo
CS (n = 8)	16,75 ± 3,79	13,88 ± 3,81
SE (n = 7)	37,57 ± 0,07*	34,86 ± 0,04*
TN (n = 7)	24,0 ± 0,05	24,14 ± 0,06
TNE (n = 7)	39,57 ± 0,05 [#]	41,57 ± 0,08 [#]

A figura 3 mostra o acúmulo de HSP70 nos músculos sóleo e reto femoral. Os animais dos grupos SE e TNE apresentaram tendência ($P = 0,09$) de maior acúmulo de HSP70 (sóleo: 12,52 e 17,66%; reto femoral: 23,45 e 19,26%, respectivamente), comparados aos seus controles (CS e TN, respectivamente), porém as diferenças não atingiram significância estatística.

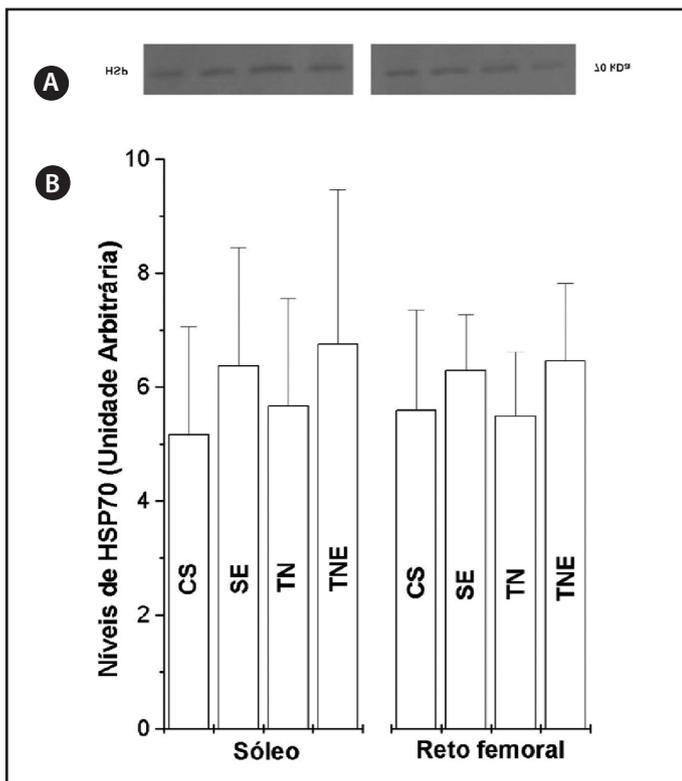


Figura 3. Acúmulo de proteína de choque térmico (HSP70) nos músculos sóleo e reto femoral de ratos Wistar. As mesmas quantidades de proteínas dos músculos foram separadas por SDS-PAGE e o imunoblotting foi feito com anticorpo monoclonal HSP70. A: controle sedentário; B: sedentário submetido a teste de exaustão; C: treinado em natação; D: treinado em natação submetido a teste de exaustão.

DISCUSSÃO

Este estudo investigou se um programa de treinamento em natação com baixa intensidade, abaixo do limiar de lactato, é capaz de proteger os músculos esqueléticos contra lesões induzidas por exercício exaustivo em ratos. Observamos que o programa de treinamento aplicado melhorou a performance dos animais, mas não promoveu proteção aos músculos esqueléticos estudados contra as lesões induzidas pelo exercício exaustivo.

Nós demonstramos que o programa de natação aplicado foi eficiente para causar adaptações ao organismo dos animais, pois os animais treinados nadaram por mais tempo até a exaustão, se comparados

aos sedentários. Além disso, estes animais realizaram o esforço com menor acúmulo de lactato em relação aos controles sedentários⁽²⁷⁾. Estes dados indicam que os animais dos grupos TN e TNE estavam treinados.

Após o teste de exaustão, porém, os músculos analisados apresentaram lesões em resposta ao esforço realizado. As principais lesões evidenciadas neste estudo foram: vacuolização citoplasmática, leves reações inflamatórias intersticiais e ocorrência de núcleos volumosos e deslocados para a posição central da fibra⁽²⁾. Estes resultados mostram que o teste de exaustão foi suficiente para causar lesões musculares.

Nos animais sedentários, tanto no sóleo – músculo de características oxidativas – como na porção branca do reto femoral – músculo de características glicolíticas –, a frequência de fibras lesadas foi maior nos animais submetidos à exaustão do que nos controles (sóleo: 151%; reto femoral: 126%). Durante o exercício físico intenso há 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⁽¹⁾. Esse tipo de exercício pode ativar diferentes vias de formação de espécies reativas de oxigênio e também desencadear lesões musculares como aquelas observadas neste estudo⁽³⁾.

Nos animais treinados, da mesma forma, a frequência de fibras lesadas foi maior nos animais submetidos à exaustão (TNE) do que nos controles, grupo TN (sóleo: 64,00%; reto femoral: 155,00%). Estes dados mostram que as adaptações ao treinamento não protegeram os músculos contra as lesões induzidas pelo exercício exaustivo. Uma das adaptações ao treinamento físico que poderia exercer a função de proteção é o aumento da expressão de HSP70, pela sua função antiapoptótica⁽¹⁹⁾. O aumento de HSP no músculo esquelético após exercício é capaz de restaurar a homeostase, promover a remodelação celular e fornecer proteção contra os repetidos insultos celulares ocorridos durante a atividade física⁽²⁸⁾.

Nossos dados mostram que os níveis de HSP70, apesar de mais altos nos animais treinados que nos controles após o teste de exaustão, não foram estatisticamente diferentes. A Hsp72 é expressa exclusivamente por eventos de estresse⁽¹¹⁾, sendo altamente induzida pelo exercício físico em músculo esquelético e cardíaco⁽¹⁶⁾, enquanto a Hsp73 é constitutiva⁽²⁹⁾. Assim, os valores mais altos de HSP70 encontrados nos animais treinados, quando comparados aos dos animais controle (CS), embora não estatisticamente diferentes, refletem a indução da expressão de Hsp72 nos músculos analisados (figura 3).

Em concordância com os resultados do presente estudo, Smolka *et al.*⁽⁴⁾, reportaram que o exercício até a exaustão não resultou na indução de HSP70 ou diminuição da atividade de enzimas antioxidantes em ratos treinados. Segundo os autores, a exaustão foi menos estressante para os ratos treinados devido à elevada atividade de enzimas antioxidantes preexistentes no músculo sóleo desses animais. É possível que espécies reativas de oxigênio ataquem proteínas musculares dos ratos sedentários e sinalizem para a indução da expressão de HSP70 após a exaustão. Por outro lado, se o sistema enzimático antioxidante preexistente é suficiente para evitar ou minimizar o ataque das espécies reativas de oxigênio, a indução da expressão de HSP 70 pode não ser iniciada ou ser levemente iniciada.

Outra possibilidade é que a intensidade do treinamento aplicado no presente estudo não tenha sido suficiente para aumentar a expressão de HSP70 nos músculos esqueléticos destes animais. Os mecanismos responsáveis pela indução da síntese da HSP70, em resposta ao exercício crônico, envolvem várias alterações fisiológicas e fatores tais como elevação da temperatura interna e muscular, aumento da con-

centração de lactato, aumento da ação de catecolaminas, diminuição do pH, glicogênio e ATP, aumento de radicais livres e alterações no cálcio citosólico. Tais alterações poderiam, isoladas ou conjuntamente, explicar o conseqüente aumento das HSP70. Todavia, estes fatores estão presentes de forma diferenciada, se considerarmos o volume, a intensidade e o grau de estresse provocado pelo modelo de exercício^(14,29). Alguns estudos têm creditado os altos níveis de expressão de HSP70 em resposta ao exercício à intensidade do mesmo^(14,30).

Em conclusão, apesar de o programa de natação com baixa intensidade aumentar a performance dos animais no teste de exaustão,

não promoveu proteção aos músculos esqueléticos estudados contra as lesões induzidas pelo exercício exaustivo.

AGRADECIMENTOS

Projeto financiado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG-CBB 1851/05). A.J. Natali é bolsista de produtividade do CNPq.

Todos os autores declararam não haver qualquer potencial conflito de interesses referente a este artigo.

REFERÊNCIAS

1. Clebis NK, Natali MRM. Lesões musculares provocadas por exercícios excêntricos. *R Bras Ci e Mov* 2001;9:47-53.
2. Duarte JA, Mota MP, Neuparth MJ, Apeel HJ, Soares JMC. Miopatia do exercício. *Anatomopatologia e fisiopatologia. Rev Port Cien Desp* 2001;1:73-80.
3. Koury JC, Donangelo CM. Zinco, estresse oxidativo e atividade física. *Rev Nutr* 2003;16:433-41.
4. Smolka MB, Zoppi CC, Alves AA, Silveira LR, Marangoni S, Perreira-da-Silva L, et al. **HSP72 as a complementary protection against oxidative stress induced by exercise in the soleus muscle of rats.** *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2000;279:1539-45.
5. Clarkson PM, Sayers SP. Etiology of exercise-induced muscle damage. *Can J Appl Physiol* 1999;24:234-48.
6. Arends MJ, Wyllie AH. Apoptosis: mechanisms and roles in pathology. *Int Rev Exper Pathol* 1991;32:223-54.
7. Sanchez-Torres LE, Vargas FD. Apoptosis: el fenómeno y su determinación. *Téc Pecu Méx* 2003;41:49-62.
8. Guimarães CA, Linden R. Programmed cell death. Apoptosis and alternative deathstyles. *Eur J Biochem* 2004;271:1638-50.
9. Nakagawa T, Yuan J. Cross-talk between two cysteine protease families. Activation of caspase-12 by calpain in apoptosis. *J Cell Biol* 2000;150:887-94.
10. Kiang JG, Tsokos GC. Heat shock protein 70 kDa: molecular biology, biochemistry, and physiology. *Pharmacol Ther* 1998;80:183-201.
11. Snoeckx LH, Cornelussen RN, Van Nieuwenhoven FA, Renemam RS, Van Der Vusse GJ. Heat shock proteins and cardiovascular pathophysiology. *Physiol Rev* 2001;81(4):1461-97.
12. Adhithetty PJ, Hood DA. Mechanisms of apoptosis in skeletal muscle. *Basic Appl Myol* 2003;13:171-9.
13. Ji LL. Exercise-induced modulation of antioxidant defense. *Ann NY Acad Sci* 2002;959:82-92.
14. Milne KJ, Noble EG. Exercised-induced elevation of HSP70 is intensity dependent. *J Appl Physiol* 2002;93:561-8.
15. Lunz W, Oliveira EC, Neves MT, Fontes EP, Dias CM, Natali AJ. Anabolic steroid and exercise induced cardiac stress protein (HSP72) in the rat. *Braz J Med Biol Res* 2006;39:889-93.
16. Whitham M, Fortes MB. Heat shock protein 72: release and biological significance during exercise. *Front Biosci* 2008;13:1328-39.
17. Radak Z, Taylor AW, Ohno H, Goto S. Adaptation to exercise-induced oxidative stress: from muscle to brain. *Exerc Immunol Rev* 2001;7:90-107.
18. Bupha-Intr T, Wattanapernpool J. Cardioprotective effects of exercise training on myofilament calcium activation in ovariectomized rats. *J Appl Physiol* 2004;96:1755-60.
19. Siu PM, Bryner RW, Martyn JK, Alway SE. Apoptotic adaptations from exercise training in skeletal and cardiac muscles. *Faseb J* 2004;18:1150-2.
20. Siu PM, Bryner RW, Murlasits Z, Alway SE. Response of XIAP, ARC, and FLIP apoptotic suppressors to 8 wk of treadmill running in rat heart and skeletal muscle. *J Appl Physiol* 2005;99:204-9.
21. Bolter CP, Gordon BL. Cholinergic responses of isolated atria from swim-trained rats. *Eur J Appl Physiol* 1983;51:231-6.
22. Voltarelli FA, Gobatto CA, Mello MAR. Determination of anaerobic threshold in rats using the lactate minimum test. *Braz J Med Biol Res* 2002;35:1389-94.
23. Vendetti P, Di Meo S. Antioxidants, tissue damage, and endurance in trained and untrained young male rats. *Arch Biochem Biophys* 1996;331:63-8.
24. Dawson CA, Horvath SM. Swimming in small laboratory animals. *Med Sci Sports Exerc* 1970;2:51-78.
25. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem* 1976;72:248-54.
26. Laemmli UK. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 1970;227:680-5.
27. Gobatto CA, Mello MAR, Sibuya CY, Azevedo JRM, Santos LA, Kokubun E. Maximal lactate steady state in rats submitted to swimming exercise. *Comp Biochem Physiol* 2001;130:21-7.
28. Morton JP, MacLaren DP, Cable NT, Bongers T, Griffiths RD, Campbell IT, et al. Time course and differential responses of the major heat shock protein families in human skeletal muscle following acute nondamaging treadmill exercise. *J Appl Physiol* 2006;101:176-82.
29. Skidmore R, Gutierrez JA, Guerrero V, Kregel KC. HSP70 induction during exercise and heat stress in rats: role of internal temperature. *Am J Physiol* 1995; 268:92-7.
30. Noble EG, Moraska A, Mazzeo RS, Roth DA, Olsson MC, Moore RL, Fleshner M. Differential expression of stress proteins in rat myocardium after free wheel or treadmill run training. *J Appl Physiol* 1999;86:1696-701.