

INTERFERÊNCIA DA L-ARGININA E DO EXERCÍCIO FÍSICO SOBRE A MORFOLOGIA DO MÚSCULO ESTRIADO ESQUELÉTICO EM RATOS JOVENS



L-ARGININE AND PHYSICAL EXERCISE INTERFERENCE ON THE MORPHOLOGY OF THE SKELETAL MUSCLE IN YOUNG RATS

Maria Patrícia Pereira Melo¹
Anna Carolina de Sena e Vasconcelos¹
Patrícia Clara Pereira dos Santos¹
Heloísa Mirelle Costa Monteiro¹
Ângela Amâncio dos Santos¹
Luciana Maria Silva de Seixas Maia¹
Liriane Baratella Evêncio¹

1. Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) – Recife, PE, Brasil.

Correspondência:

Departamento de Histologia e Embriologia.
Rua Professor Moraes Rego, 1.235,
Cidade Universitária.
50670-900 – Recife, PE, Brasil.
liriane@uol.com.br

RESUMO

Introdução: O exercício físico pode promover alterações anatomofisiológicas no músculo estriado esquelético e a ingestão do aminoácido L-arginina pode influenciar na morfometria da fibra muscular esquelética. **Objetivo:** Analisar a influência da L-arginina associada ao exercício físico sobre a fibra muscular esquelética. **Métodos:** Foram utilizados 24 ratos da linhagem Wistar. Aos sete dias de vida, esses animais foram divididos em dois grupos: tratados com L-arginina (grupo-Ar; 300 mg/kg/dia) e tratados com volume equivalente do veículo – água destilada (grupo-Ag; controle). A L-arginina ou a água foi administrada diariamente por gavagem. Aos 15 dias de idade, os animais dos grupos Ar e Ag foram subdivididos de acordo com a condição de exercício físico a que foram submetidos: exercitados em esteira (grupo E) e não exercitado (grupo N). O exercício foi realizado em esteira (ET 2000 Insight) cinco dias por semana com duração diária de 30 minutos. Os grupos foram assim distribuídos (n = 6): AgN, AgE, ArN e ArE. Ao atingirem a idade de 35-45 dias de vida, os animais foram pesados, sacrificados e retirado o músculo gastrocnêmio. Este foi medido, pesado e processado para análise histológica. As imagens do músculo foram capturadas na objetiva de 100x para cálculo do diâmetro médio da fibra muscular. Os dados foram expressos na forma de média \pm desvio padrão, analisados através do programa SPSS. Foram utilizados os testes de Shapiro-Wilk, ANOVA *one way* e teste de Tukey ($p < 0,05$). **Resultados:** Não houve diferença entre os grupos, quanto ao peso corporal do animal e ao peso do músculo gastrocnêmio. No entanto, o grupo ArN apresentou diâmetro médio maior significativamente quando comparado aos dos demais grupos. **Conclusão:** Isto sugere que a L-arginina, em animais que não realizaram o exercício físico, promove hipertrofia muscular, enquanto que o exercício realizado não foi capaz de promover aumento do diâmetro da fibra muscular.

Palavras-chave: arginina, exercício físico, músculo esquelético.

ABSTRACT

Introduction: Exercise and amino acid L-Arginine can promote anatomical and physiological changes in skeletal muscle. **Objective:** The objective of this work was to analyse the influence of L-arginine associated with the exercise in skeletal muscle fibers. **Methods:** To carry out our research, 24 male Wistar rats divided into 4 groups according to the administration of Arginine and physical exercise were used. The experimental groups were distributed as follows: Arginine-Exercise (AE, n = 6), Arginine-Not Exercised (AN, n = 6), Water-Exercise (WE, n = 6) and Water-Not Exercised (WN, n = 6). The amino acid L-Arginine was administered via orogastric intubation, at dose of 300mg/kg, daily from the 7th to 35th days of life of the animal. The exercise was performed on motorized treadmill for 30 minutes/day, 5 times a week, from 15th to 35th days of life of the animal. At the age of 35-45 days, the animals were weighed and sacrificed in order to collect the gastrocnemius muscle. The gastrocnemius muscle was measured, weighed and processed for histological analysis. The muscle's images were taken in order to calculate the mean diameter of the muscle fiber. Data were expressed as mean \pm standard deviation and analyzed using SPSS. The Shapiro-Wilk, one-way ANOVA and Tukey's tests ($p < 0.05$) were applied. **Results:** Concerning body weight and gastrocnemius weight, there was no significant difference when all the experimental groups were compared. However, the AN group presented the highest mean diameter when compared to the other groups. **Conclusion:** This fact suggests that orogastric administration of Arginine offered to the animals that were not exercised, promotes muscle hypertrophy. On the other hand, exercise by itself did not lead to increase in mean diameter of skeletal muscle.

Keywords: arginine, exercise, skeletal muscle fibers.

Recebido em 04/05/2012, Aprovado em 30/11/2012.

INTRODUÇÃO

As respostas do organismo ao exercício físico podem levar a alterações anatomofisiológicas de vários tecidos do corpo, dentre eles o tecido muscular¹. As alterações do músculo esquelético são decorrentes da sobrecarga funcional durante o exercício, promovendo assim o

aumento da tensão muscular e produção de energia². Aliado a isso, o aumento de trabalho muscular durante o exercício físico é capaz de promover reações químicas que são responsáveis pela hipertrofia muscular³. Estudos mostram que durante o esforço aeróbico do exercício ocorre ruptura de proteínas do organismo, havendo então liberação de aminoácidos⁴.

Deste modo, os atletas podem necessitar de um aumento na ingestão de proteínas ou de algum aminoácido específico⁵. A captação de aminoácidos pelo músculo esquelético é um evento precoce para iniciar a hipertrofia³.

A L-arginina vem sendo amplamente estudada e faz parte da composição de vários suplementos alimentares⁶. Este aminoácido é considerado condicionalmente essencial, visto que, por não ser produzido pelo próprio organismo em algumas fases da vida e sob certas condições patológicas, necessita ser adquirido através da dieta^{7,8}.

A administração oral desse aminoácido tem sido relacionada com a melhora do desempenho físico por redução da fadiga muscular. Esse efeito está associado à ação vasodilatadora promovida pelo óxido nítrico que é formado a partir da L-arginina. A vasodilatação resulta em aumento da perfusão muscular e maior oferta de glicose pelos músculos em atividade⁹. Acredita-se que o próprio efeito da perfusão da musculatura esquelética contribua para melhor qualidade do treinamento, resultando em aumento de massa muscular e força contrátil¹⁰.

Além dos efeitos da L-arginina relacionados à vasodilatação, há ainda associação deste aminoácido com a melhoria da força contrátil através de uma maior síntese de proteínas musculares¹¹.

Para se estudar os efeitos do exercício físico em animais de laboratório, a esteira motorizada tem sido bastante utilizada, uma vez que este tipo de exercício vem sendo amplamente empregado em programas de reabilitação e treinamento físico¹. Adicionalmente, com o intuito de se investigar alterações na fibra muscular, como hipertrofia, decorrentes da prática do exercício tem-se a mensuração de dimensões geométricas das secções transversais das fibras, como diâmetro².

Diante do exposto, tem-se como objetivo investigar as possíveis influências da ingestão do aminoácido L-arginina quando associado à prática do exercício físico sobre peso corporal e músculo esquelético de ratos jovens.

METODOS

Este estudo experimental foi submetido à apreciação da Comissão de Ética em Experimentação Animal do Centro Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco (CEUA-UFPE), sendo aprovado sob o protocolo nº 23076.005924/2008-80, seguindo-se as normas recomendadas pelo Comitê Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA).

Foram utilizados 24 ratos machos da linhagem Wistar, provenientes da colônia do Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco, mantidos em quatro gaiolas coletivas contendo seis filhotes em cada. Esses animais foram mantidos sob condição padrão do biotério, em sala à temperatura de $22 \pm 2^\circ\text{C}$, submetidos a um ciclo artificial claro/escuro de 12/12 horas (o escuro iniciando-se às 19 horas), água e dieta Labina (Purina®, Paulínia, SP, Brasil) *ad libitum*.

Ao atingirem a idade de sete dias, os animais foram separados em dois grupos, de acordo com a administração de L-arginina: animais tratados com L-arginina (grupo Ar; 300 mg/kg/dia) e animais tratados com volume equivalente de água destilada (grupo Ag). A L-arginina ou a água foram administradas diariamente por gavagem do sétimo ao 35º dia de vida, no horário das seis às oito horas. O volume total administrado em cada gavagem variou de 0,5 ml/dia (sétimo ao 14º dia de vida do animal) a 1,0 ml/dia (15º ao 35º dia de vida do animal)¹².

Na idade de 15 dias, os animais (Ar e Ag) foram subdivididos em dois outros grupos segundo a prática de exercício físico: Exercitados (AgE e ArE) e Não exercitados (AgN e ArN). Cada grupo experimental possui seis animais. O exercício físico foi realizado em esteira motorizada (ET 2000, Insight Equipamentos Científicos, Ribeirão Preto, Brasil) em cinco sessões semanais, com 30 minutos de duração no horário de seis às oito horas. O exercício foi realizado do 15º ao 35º dia de vida do

animal com velocidade da esteira de 5 m/min, 10 m/min e 15 m/min, na primeira, segunda e terceira semanas, respectivamente¹².

Todos os animais foram pesados no sétimo, 14º, 21º e 28º dia de vida, assim como no dia do sacrifício (35-45 dias de vida). Para o sacrifício, os animais foram submetidos a uma anestesia com solução contendo mistura de uretana a 10% + cloralose a 0,4%, à dose de 1.000 mg/kg de uretana + 40 mg/kg de cloralose, via intraperitoneal. Foi então retirado o músculo gastrocnêmio para sua pesagem e medição de seu comprimento utilizando-se uma linha ao longo do músculo desde o seu tendão de origem até o de inserção. Essa distância foi transferida para uma régua milimetrada de medida com precisão 0,05 cm. Após a medição, o músculo foi fixado em formol a 10% por um período mínimo de 48 h, desidratado e diafanizado convencionalmente para microscopia de luz e embocado em parafina. Secções transversais do músculo foram obtidas com aproximadamente 4 µm de espessura através do micrótomo (Leica). Todos os cortes obtidos foram corados pela hematoxilina-eosina e montados em Entellan® (Merck).

As imagens dos cortes histológicos dos músculos (magnificação 1.000 x) foram selecionadas em microscópio, capturadas e digitalizadas através de câmera digital acoplada a um microcomputador. Com a finalidade de avaliar a hipertrofia das fibras musculares foi realizada a mensuração do diâmetro médio em amostras de 50 fibras por animal por meio do *software* ImageJ⁶. Para a análise estatística utilizou-se inicialmente o teste de Shapiro-Wilk para testar a normalidade da amostra e para a análise de variância (ANOVA *one way*). Nas amostras que apresentaram diferenças significativas foi utilizado o pós-teste de Tukey. O nível de significância foi considerado com $p < 0,05$. Essa análise estatística foi realizada utilizando-se o programa SPSS 15.0 (*Statistical Package for the Social Sciences*, Chicago, USA) para *Windows*®.

RESULTADOS

Quanto ao peso dos animais no dia do sacrifício, não houve diferença significativa entre os grupos experimentais (0,07525), ao comparar suas médias (figura 1). Os resultados foram expressos na forma de média \pm desvio padrão da média. O peso corporal (g) dos animais no dia do sacrifício foi de $139,53 \pm 21,96$ para o grupo AgN, $132,41 \pm 15,01$ para o AgE, $141,11 \pm 22,37$ para o ArN e $114,05 \pm 13,27$ para o ArE.

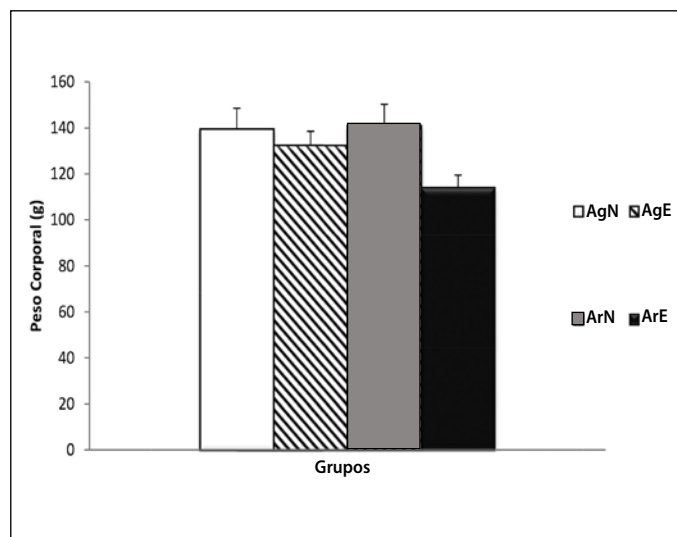


Figura 1. Efeito do exercício físico e/ou do aminoácido L-arginina durante o desenvolvimento sobre o peso corporal (g) de ratos Wistar jovens no dia do sacrifício. Encontram-se representados os quatro grupos experimentais: AgN (n = 6), AgE (n = 6), ArN (n = 6) e ArE (n = 6). Dados apresentados em forma de média \pm erro padrão (ANOVA *one way*, $p < 0,05$).

Peso absoluto e relativo do músculo gastrocnêmio dos animais na idade pré-determinada, foram, respectivamente: $0,6136 \pm 0,1068$ e $0,004416 \pm 0,1068$ para o grupo AgN, $0,60195 \pm 0,13747$ e $0,004466 \pm 0,00024$ para o AgE, $0,66488 \pm 0,13873$ e $0,00468 \pm 0,000365$ para o ArN, $0,52945 \pm 0,15007$ e $0,004183 \pm 0,000299$ para o ArE. Após análise estatística, foi observado que estes dados não apresentaram diferença significativa (figura 2).

O comprimento do músculo gastrocnêmio foi de $2,11 \pm 0,26$ para o grupo AgN, $2,18 \pm 0,26$ para o AgE, $2,21 \pm 0,19$ para o ArN e $2,08 \pm 0,27$ para o ArE (figura 3). Os grupos apresentaram valores de comprimentos semelhantes, não havendo, portanto, diferença estatística entre eles ($p = 0,164672$). O diâmetro médio da fibra muscular (μm)

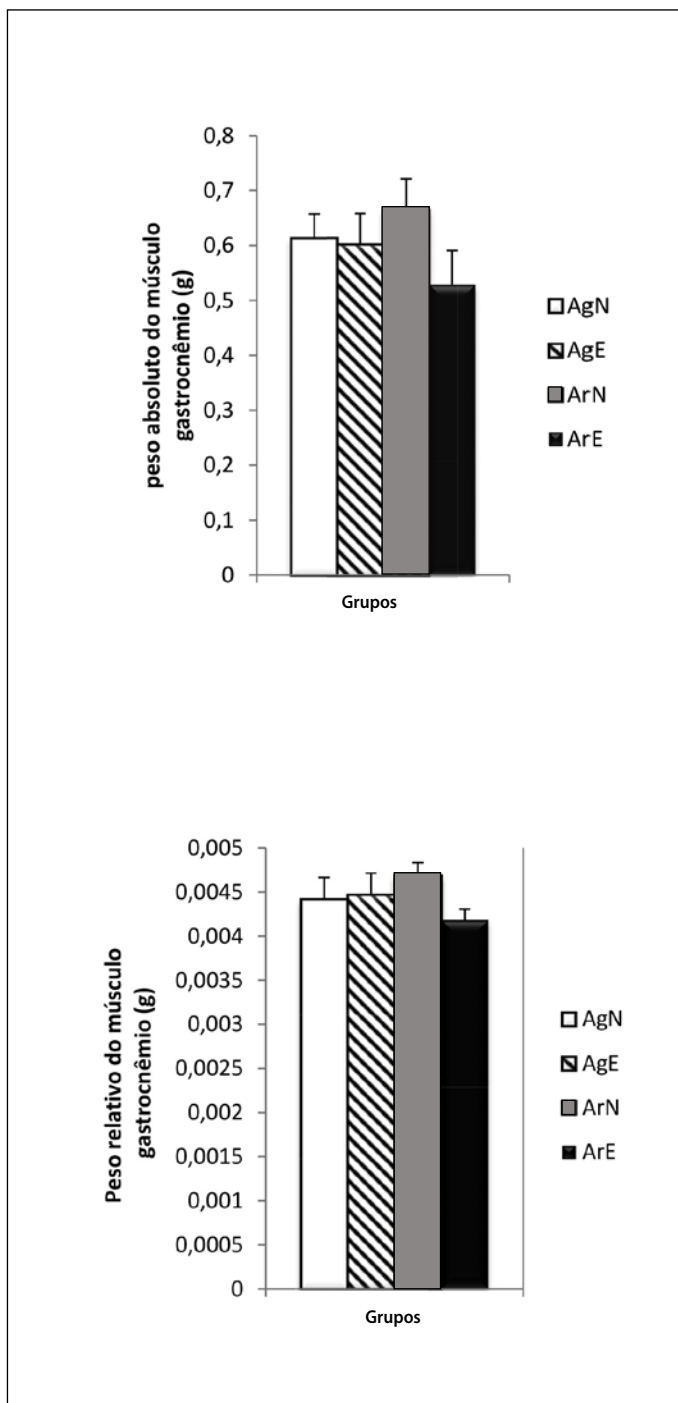


Figura 2. Efeito do exercício físico e/ou do aminoácido L-arginina durante desenvolvimento sobre o peso (g) absoluto e relativo do músculo gastrocnêmio de ratos Wistar jovens. Dados apresentados em forma de média \pm erro padrão (ANOVA *one way*, $p < 0,05$) dos grupos experimentais: AgN (n = 6), AgE (n = 6), ArN (n = 6) e ArE (n = 6).

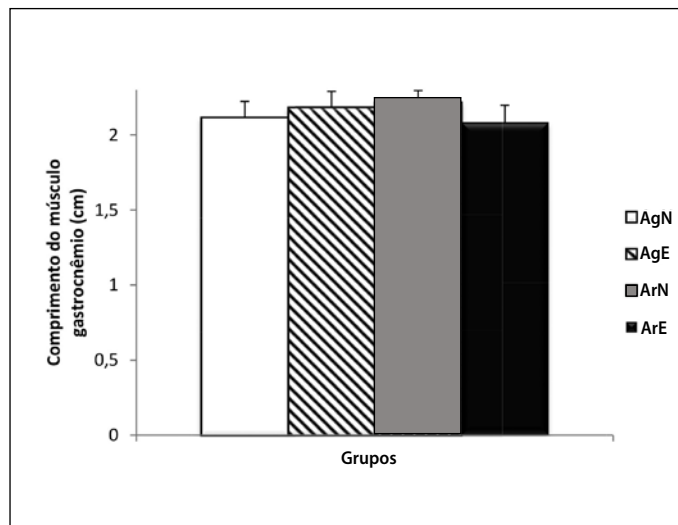


Figura 3. Efeito do exercício físico e/ou do aminoácido L-arginina durante o desenvolvimento sobre comprimento músculo gastrocnêmio de ratos Wistar jovens. Dados apresentados em forma de média \pm erro padrão (ANOVA *one way*, $p < 0,05$) dos quatro grupos experimentais: AgN (n = 6), AgE (n = 6), ArN (n = 6) e ArE (n = 6).

do gastrocnêmio (figura 4) foi de $30,855 \pm 1,627,19$ para o grupo AgN, $31,671,51 \pm 2,657,79$ para o AgE, $35,784,9 \pm 3,037,78$ para o ArN e $30,857,03 \pm 2,483,21$ para o ArE. O grupo ArN teve um aumento do diâmetro quando comparado aos grupos AgN ($p = 0,00031$) e ArE ($p = 0,013677$).

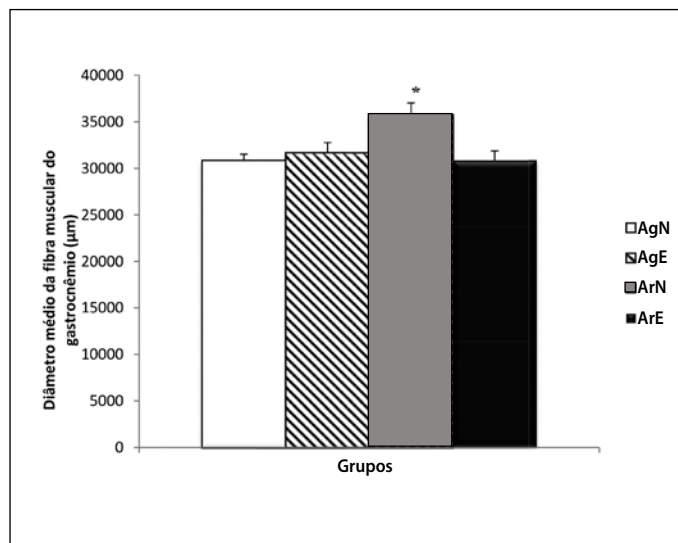


Figura 4. Efeito do exercício físico e/ou do aminoácido L-arginina durante o desenvolvimento sobre o diâmetro médio (μm) de fibras musculares de ratos Wistar jovens no dia do sacrifício. Encontram-se representados os quatro grupos experimentais: AgN (n = 6), AgE (n = 6), ArN (n = 6) e ArE (n = 6). Dados apresentados em forma de média + erro padrão (ANOVA *one way*, *post hoc* de Tukey; $p < 0,05$). O símbolo * expressa que o grupo ArN teve um maior diâmetro médio da fibra muscular quando comparado aos demais grupos.

DISCUSSÃO

Nossos resultados mostram que nem o exercício físico nem a ingestão oral do aminoácido L-arginina foram capazes de influenciar no peso corporal dos animais estudados. Há relatos na literatura de que o óxido nítrico produzido pela L-arginina pode reduzir a ingestão alimentar, resultando em uma diminuição de peso corporal de ratos e camundongos^{13,14}. Porém, nossos resultados contrapõem-se a estes, corroborando estudos mais recentes. Lin *et al.*¹⁵, Suzuki¹⁶ e Huang *et al.*¹⁷

analisaram o peso corporal de ratos Wistar com diferentes idades, submetidos a diversos tipos de exercícios físicos e à administração de L-arginina em quantidades variáveis. Tais trabalhos não comprovaram diferença no peso corporal dos animais estudados. Logo, sugerimos que, independente da dose deste aminoácido, não há relação entre sua ingestão e a prática do exercício físico no que diz respeito ao peso dos animais.

Quanto ao comprimento do músculo gastrocnêmio, também não houve diferença significativa entre os grupos estudados. No entanto, não se tem registro na literatura de estudos que avaliem tal parâmetro macroscópico, relacionando-o com o exercício físico e com a ingestão deste aminoácido. Acredita-se que a contração muscular decorrente da prática do exercício físico possa levar à hipertrofia das fibras musculares¹⁰, o que reflete no aumento do comprimento do ventre do músculo esquelético. Acrescenta-se a isso o fato de que a L-arginina, por promover a vasodilatação no músculo esquelético, poderia potencializar essa hipertrofia graças a um maior aporte sanguíneo e de nutrientes para este músculo em atividade^{9,10}.

Os resultados deste estudo mostram que não houve diferença significativa entre o diâmetro médio das fibras dos animais que realizaram o exercício físico quando comparados ao grupo sedentário. O diâmetro médio da fibra muscular é um dado que reflete a hipertrofia muscular, sendo, portanto, uma medida bastante utilizada para se estudar os efeitos do exercício físico sobre a musculatura estriada esquelética em ratos^{1,2}. A hipertrofia é proveniente da demanda funcional aumentada devido à sobrecarga física e é resultado de mudanças no metabolismo e proliferação celular¹⁸. Estudos mostram um aumento do diâmetro médio em ratos submetidos à prática de exercício físico^{1,2}. Nossos resultados, entretanto, diferem dos já citados, visto que não obtivemos aumento do diâmetro médio das fibras dos animais submetidos à prática do exercício físico. Acreditamos que isso pode ser explicado pelo protocolo de exercício utilizado, sendo, dessa forma, uma sobrecarga insuficiente para estimular a hipertrofia. Ao comparar o protocolo deste trabalho com os de Camargo Filho *et al.*¹ e Brito *et al.*², observamos que a duração do exercício foi a mesma, porém a duração do presente estudo é inferior e a velocidade da esteira não foi mencionada por esses autores. Isto nos permite inferir que, para que haja uma resposta muscular adequada, devem ser levados em consideração fatores que caracterizam o exercício físico, como: duração, frequência e intensidade. A intensidade do exercício é definida de acordo o consumo máximo de oxigênio ($VO_{2máx}$) e frequência cardíaca máxima ($FC_{máx}$) durante a atividade, podendo ser classificada como: leve, moderada e intensa¹⁹. O exercício realizado neste trabalho baseia-se numa modificação do protocolo de Silva *et al.*²⁰, que o classificam como moderado.

O diâmetro médio do grupo de animais não exercitados aos quais foi administrada a L-arginina foi significativamente maior quando comparado aos demais grupos. Em adultos, a L-arginina associada ao exercício está relacionada ao aumento da massa muscular explicada pelo efeito vasodilatador do óxido nítrico produzido por este aminoácido¹⁰. A vasodilatação aumenta a perfusão muscular e aumento de nutrientes para o músculo em atividade, o que favorece o aumento da massa muscular. Esse mecanismo explica o aumento do diâmetro em indivíduos que fizeram uso do aminoácido L-arginina enquanto realizavam exercício físico. Além disso, pesquisas recentes descobriram que o aminoácido L-arginina estimula a secreção do hormônio do crescimento (GH). O GH promove a hipertrofia muscular, pois facilita o transporte de aminoácidos para o interior das células²¹. A influência do exercício físico sobre o GH mostrou-se contraditória,

sendo dependente do tipo e intensidade do exercício realizado^{22,23}. Stokes *et al.*²³ e Collier *et al.*²⁴ observaram que há elevação nos níveis de GH mesmo em repouso em indivíduos suplementados com L-arginina. Dessa forma, acreditamos que a dose de L-arginina (300 mg/kg) do presente estudo foi capaz de provocar hipertrofia da musculatura estriada esquelética, possivelmente através da elevação dos níveis de GH; já o efeito vasodilatador está diretamente associado à ingestão desse aminoácido concomitantemente à prática do exercício físico. Logo, nossos resultados corroboram Chiyoda *et al.*²⁵, que mostraram que a administração orogástrica de L-arginina não teve interação com o exercício físico. Ao compararmos o diâmetro médio dos grupos de animais exercitados, observamos que não houve diferença significativa entre aqueles que ingeriram o aminoácido e os que não ingeriram. A hipertrofia, expressada pelo aumento do diâmetro médio da fibra muscular, é entendida como o balanço positivo entre a síntese e a degradação de proteína induzida pelo exercício físico²⁶. Logo, esses efeitos do exercício físico dependem de uma melhor definição do mesmo, como intensidade específica. Além disso, a L-arginina tem-se mostrado eficaz na hipertrofia muscular, visto que eleva a taxa de síntese proteica. Matsumoto *et al.*²⁷ observaram que a suplementação orogástrica de L-arginina (2 g) associada ao exercício físico de intensidade moderada suprimiu a proteólise muscular durante este exercício, resultando em balanço proteico positivo e, conseqüentemente, em hipertrofia. No entanto, nos nossos estudos, tal efeito não foi observado, o que pode ser justificado pela dose de L-arginina utilizada neste trabalho.

A ingestão oral do aminoácido L-arginina tem-se mostrado eficaz em aumentar a angiogênese induzida pelo exercício físico através do aumento da expressão do fator de crescimento endotelial vascular (VEGF)¹⁶. Autores relatam que a elevação nos níveis de VEGF em pacientes resultou em aumento da circulação arterial colateral²⁸. Esse aumento da angiogênese pode estar relacionado com o aumento da hipertrofia muscular. No entanto, em nossos resultados, essa provável correlação parece não estar ligada à prática do exercício físico, já que a hipertrofia ocorreu apenas nos animais do grupo arginina não exercitado.

Sabe-se que o desuso da musculatura estriada esquelética, devido à falta de estímulo por sobrecarga, leva à destruição das proteínas intramusculares, o que resulta em atrofia muscular²⁹. A ingestão de 500 mg/kg de L-arginina foi suficiente para impedir a atrofia por desuso em músculos da pata posterior de ratos Wistar³⁰. Este resultado está em consonância com os nossos, porém deve-se considerar que a dose de 300 mg/kg, utilizada neste trabalho, pode apresentar o mesmo resultado.

CONCLUSÃO

Em suma, a ingestão do aminoácido L-arginina na dose de 300 mg/kg, sem interferência do exercício físico, foi capaz de promover hipertrofia da musculatura estriada esquelética. No nosso estudo, foi utilizada uma dose capaz de promover efeito positivo sobre a musculatura estriada esquelética, já que não se tem registro da dose específica deste aminoácido para esta finalidade. No entanto, a relação da L-arginina com o exercício físico não está bem estabelecida. Considera-se, então, a necessidade de uma sistematização mais detalhada do protocolo do exercício físico para que este influencie positivamente no diâmetro médio da fibra muscular. Dessa forma, parâmetros como duração, intensidade e frequência do exercício devem ser melhor definidos.

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

REFERÊNCIAS

1. Camargo Filho JCS C, Vanderlei LCM, Camargo RC T, Oliveira DAR, Júnior SAO, Pai VD, et al. Análise histológica, histoquímica e morfométrica do músculo sóleo de ratos submetidos a treinamento físico em esteira rolante. *Arq Ciênc Saúde* 2005;12:196-9.
2. Brito MKM, Filho JCSC, Vanderlei LCM, Tarumoto MH, Pai VD, Giacometti JÁ. Dimensões geométricas das fibras do músculo sóleo de ratos exercitados em esteira rolante: a importância da análise por meio de imagens digitalizadas. *Rev Bras Med Esporte* 2006;12:103-7.
3. Luciano E, Mello, MAR. Atividade física e metabolismo de proteínas em músculo de ratos diabéticos experimentais. *Rev Paul Educ Fís* 1998;12:202-9.
4. Philipp JMS. O uso de suplementos alimentares e hábitos de vida de universitários: o caso da UFSC [dissertação]. Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina; 2004.
5. Castillo VD. La alimentación del deportista. *Educación Física y Deportes*, año 3, n.9. Buenos Aires, Marzo 1998. Acesso em 20 ago 2010. Disponível em: <http://www.efdeportes.com/efd9/nutric9.htm>.
6. Nicastro H, Dattilo M, Rogero MM. A suplementação de L-arginina promove implicações ergogênicas no exercício físico? Evidências e considerações metabólicas. *Rev Bras Ci e Mov* 2008;16:115-22.
7. Weisinger H. Arginine Metabolism and synthesis of the nitric oxide. *Prog Neurobiol* 2001;64:365-91.
8. Coman D, Yaplito-Lee J, Boneh A. New indications and controversies in arginine therapy. *Clin Nutr* 2008;27:489-96.
9. Meneilly GS, Battistini B, Flora JS. Contrasting effects of L-arginine on insulin-mediated blood flow and glucose disposal in the elderly. *Metabolism* 2001;50:194-9.
10. Angeli G, Barros TL, BarrosDFL, Lima M. Investigação dos efeitos da suplementação oral de arginina no aumento de força e massa muscular. *Rev Bras Med Esporte* 2007;13:129-32.
11. Schrage WG, Joyner MJ, Dinenna FA. Local inhibition of nitric oxide and prostaglandins independently reduces forearm exercise hyperaemia in humans. *J Physiol* 2004;2:599-611.
12. Monteiro HM, de Lima e Silva D, de França JP, Maia LM, Angelim MK, dos Santos AA, et al. Differential effects of physical exercise and L-arginine on cortical spreading depression in developing rats. *Nutr Neurosci* 2011;14:112-8.
13. Squadrito F, Alapai G, Cucinotta D, Altavilla D, Zingarelli B, Loculano M, et al. Anorectic activity of NG-nitro-L-arginine, na inhibitor of brain nitric oxide synthase, in obese Zucker rats. *Eur J Pharmacol* 1993;230:125-8.
14. Hui SC, Chan TY. Mechanisms mediating NG-nitro-L-arginine methyl ester-induced hypophagia in mice. *Eur J Pharmacol* 1995;283:141-50.
15. Lin WT, Yang SC, Chen CT, Huang CC, Lee NY. Protective effects of L-Arginine on pulmonary oxidative stress and anti-oxidant defenses during exhaustive exercise in rats. *Acta Pharmacol Sin* 2005;26:992-9.
16. Suzuki J. L-Arginine supplementation causes additional effects on exercise-induced angiogenesis and VRGF expression in the heart and hind-leg muscles of middle-aged rats. *J Physiol Sci* 2006;56:39-44.
17. Huang CC, Tsai SC, Lin WT. Potential ergogenic of L-Arginine against oxidative and inflammatory stress induced by acute exercise in aging rats. *Exp Gerontol* 2008;43:571-7.
18. Paul AC, Rosenthal N. Different modes of hypertrophy in skeletal muscle fibers. *J Cell Biol* 2002;156:751-60.
19. Rondon MUPB, Forjaz CLM, Nunes N, Amaral, SL, Barreto, ACP, Negrão CE. Comparação entre a Prescrição de Intensidade de Treinamento Físico Baseada na Avaliação Ergométrica Convencional e na Ergoespirométrica. *Arq Bras Cardiol* 1998;70:159-66.
20. Silva SG, Dona F, Fernandes MJS, Scorza FA, Cavalheiro EA, Arida RM. Physical exercise during the adolescent period of life increases hippocampal parvalbumin expression. *Brain Dev* 2009;1-6.
21. Fayh AP, Friedman R, Sapata KB, de Oliveira AR. Effect of L-arginine supplementation on secretion of human growth hormone and insulin-like growth factor in adults. *Arq Bras Endocrinol Metab* 2007;51:587-92.
22. Wideman L, Weltman JY, Hartman ML, Veldhuis JD, Weltman A. Growth hormone release during acute and chronic aerobic and resistance exercise recent findings. *Sports Med* 2002;32:987-1004.
23. Stokes, K, Nevill M, Frystyk J, Lakomy H, Hall G. Human growth hormone responses to repeated bouts of sprint exercise with different recovery periods between bouts. *J Appl Physiol* 2005;99:1254-61.
24. Collier SR, Casey DP, Kanaley JA. Growth hormone responses to varying doses of oral arginine. *Growth Horm IGF Res* 2005;15:136-9.
25. Chiyoda A, Nakamura PM, Codogno JS, Junior AJ, Leme JAA, Luciano E. Efeito da suplementação oral de arginina sobre a secreção de GH e metabolismo de lipídios em ratos Wistar treinados. *Motricidade* 2009;5:1-11.
26. Fernandes T, Soci UP, Alves CR, Carmo EC, Barros JG, Oliveira EM. Determinantes moleculares da hipertrofia do músculo esquelético mediados pelo treinamento físico: estudo de vias de sinalização. *Rev Mackenzie Educ Fís Esporte* 2008;7:169-88.
27. Matsumoto K, Mizuno M, Mizuno T, Dilling-Hansen B, Lahoz A, Bertelsen V, et al. Branched-chain amino acids and arginine supplementation attenuates skeletal muscle proteolysis induced by moderate exercise in young individuals. *Int J Sports Med* 2007;28:531-8.
28. Yoshida WB. Angiogênese, arteriogênese e vasculogênese: tratamento do future par isquemia crítica de membros? *J Vasc Bras* 2005;4:316-8.
29. Chopard A, Pons F, Marini JF. Cytoskeletal protein contents before and after hindlimb suspension in a fast and slow rat skeletal muscle. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2001;280:323-30.
30. Kartashkina N, Lomonosova Y, Shevchenko TF, Bugrova AE, Turtikova OV, Kalamkarov GR, et al. Prevention of muscle fibers atrophy during gravitational unloading: the effect of l-arginine administration. *Acta Astronaut* 2011;68:1486-94.