

**Jacinto de Menezes Neto Rosa**



**ANÁLISE DA PARTICIPAÇÃO DO LACTATO NA SECREÇÃO DE  
TESTOSTERONA EM RATOS**

Monografia apresentada como requisito parcial  
para a conclusão do Curso de Especialização  
em Fisiologia do Exercício, Setor de Ciências  
Biológicas, Universidade Federal do Paraná.

**CURITIBA**

**2013**

**Jacinto de Menezes Neto Rosa**

**ANÁLISE DA PARTICIPAÇÃO DO LACTATO NA SECREÇÃO DE  
TESTOSTERONA EM RATOS**

Monografia apresentada como requisito parcial  
para a conclusão do Curso de Especialização  
em Fisiologia do Exercício, Setor de Ciências  
Biológicas, Universidade Federal do Paraná,  
Orientador: Professor MS. Nilson Vieira Pinto.

**CURITIBA**

**2013**

Dedico este trabalho a todos que contribuíram, direta ou indiretamente, na sua realização.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente a Deus por guiar-me no caminho certo e por colocar em minha vida pessoas do bem, que sempre me apoiaram nos momentos mais difíceis.

Ao meu amigo, professor, MS. Nilson Vieira que me orientou na realização do presente estudo.

Aos amigos, professores, Dr. Tácito Pessoa, Dr. Sergio Gregorio e ao PhD. Wagner de Campos.

Aos demais professores que participaram dessa Pós-Graduação, contribuindo com o meu aprendizado na área da Fisiologia do Exercício.

Aos amigos André Martins, Luana Kihara, Vanessa Zanluche, Doug Schütze e todos os outros que fiz no decorrer do curso.

A todos que tiveram participação direta ou indireta em meu crescimento acadêmico.

## RESUMO

A testosterona, hormônio androgênico, tem sua síntese modulada por diversos estímulos, incluindo os induzidos pelo exercício. A proposta do estudo foi investigar a participação do lactato na secreção de testosterona em ratos. Foram utilizados 18 ratos machos, da linhagem Wistar, pesando entre 300 à 350g. Os animais foram distribuídos aleatoriamente em três grupos distintos: o que participou de um protocolo de exercício físico exaustivo, o que foi administrado ácido láctico e o controle. Os dois primeiros grupos foram induzidos a elevações nas suas lactacidemias, por meios endógenos e exógenos respectivamente. Após essa indução, os animais foram submetidos a um procedimento de coleta das amostras sanguíneas para análises das concentrações de lactato e testosterona livre. Enquanto que o grupo controle não participou de nenhum protocolo que induzisse hiperlactacidemia, sendo as amostras de sangue coletadas em situações de repouso. Para comparação dos resultados utilizou-se análise de variância (ANOVA). O nível de significância foi estabelecido em  $p < 0,05$ . Os resultados apontam uma diminuição na concentração plasmática da testosterona livre pelos dois grupos de animais que sofreram elevações em suas lactacidemias, quando comparados ao grupo controle. Não havendo diferença significativa quando comparados entre si. Com isso podemos especular uma possível participação do lactato na inibição da secreção de testosterona em ratos, embora não possa ser descartada a participação da acidose metabólica. Então, se sugere a realização de mais estudos nessa área, a fim de elucidar completamente uma possível relação do lactato com a secreção de testosterona em ratos.

Palavras-chave: Lactacidemia, Testosterona livre, Wistar

## ABSTRACT

The testosterone, androgenic hormone, has its synthesis modulated for diverse stimulations, including the induced ones for the exercise. The proposal of the study was to investigate the participation of lactate in the secretion of testosterone in rats. 18 male rats had been used, of the Wistar ancestry, weighing enter 300 to 350g. The animals had been distributed randomly in three distinct groups: what it participated of a protocol of exhausting physical exercise, what was managed acid lactic and the control. The two first groups had been induced the rises in its lactacidemia, for endogenous and exogenous ways respectively. After this induction, the animals had been submitted to a procedure of collections of the sanguineous samples for analyze of lactate concentrations and free testosterone. Whereas the group control did not participate of any protocol that induces hyperlactacidemia, with blood samples collected in standby situations. For comparison of the results the ANOVA was used. The level of significance was established in  $p < 0,05$ . The results show a decrease in plasma concentrations of free testosterone by the two groups of animals that suffered in their lactacidemias elevations when compared to the control group. Not having significant difference when compared between itself. With this we can speculate on a possible participation of lactate in the inhibition of the secretion of testosterone in rats, even so cannot be discarded the participation of acidosis metabolic. Then it is suggested accomplishment of more studies in this area, the end to completely elucidate the possible relation of the lactacidemia with the secretion of testosterone in rats.

Keywords: Lactacidemia, free Testosterone, Wistar

## LISTA DE FIGURAS

---

FIGURA 1	Resultados médios da lactacidemia (mmol/L) apresentados pelos grupos estudados	39
FIGURA 2	Resultados médios da concentração de testosterona livre (picog/mL) apresentados pelos grupos estudados	40

---

## LISTA DE ABREVIATURAS

---

ADP	Difosfato de Adenosina
AMPc	Monofosfato de Adenosina Cíclico
ATP	Trifosfato de Adenosina
ATPase	Trifosfatase de Adenosina
cm	Centímetro
CO <sub>2</sub>	Dióxido de Carbono
CRH	Hormônio Liberador de Corticotrofina
DAG	Diacilglicerol
DHEA	Desidroepiandrosterona
DHT	Diidrotestosterona
DNA	Ácido desoxirribonucléico
FSH	Hormônio Folículo-Estimulante
G	Proteína Heterotrimérica de Ligação ao Nucleotídeo Guanosina (isoformas: Gas, Gai, Gaq e Gα0)
g	Grama
GAP	Peptídeo Associado ao Hormônio Liberador de Gonadotrofinas
GDP	Difosfato de Guanosina
GnRH	Hormônio Liberador de Gonadotrofina
GTP	Trifosfato de Guanosina
GTPase	Trifosfatase de Guanosina
H <sup>+</sup>	Íon de Hidrogênio ou Próton
H <sub>2</sub> O	Hidróxido de Hidrogênio (Água)
hsp	Proteína de choque Térmico
IGF	Fator de Crescimento Semelhante à Insulina

---

---

IP3	Inositol Trifosfato
IRS	Substrato do Receptor da Insulina
LH	Hormônio Luteinizante
MCTs	Transportadores de Monocarboxilatos
ml	Mililitro
ml/Kg	Mililitro por Quilograma
mmol/L	Milimol por Litro
NAD+	Nicotinamida Adenina Dinucleotídio (forma oxidada)
NADH	Nicotinamida Adenina Dinucleotídio (forma reduzida)
picog/ml	Picograma por Mililitro
PIP2	Bifosfato de Fosfatidilinositol
POMC	Pró-Opiomelanocortina (pró-hormônio)
RM	Repetição Máxima
RNAm	Ácido Ribonucléico Mensageiro
rpm	Rotação por Minuto
RT	Receptor Tireoidiano
RXR	Receptor Para o Ácido 9-Cis-Retinóico
SH (2 e 3)	Domínios de Reconhecimento Específico Para Fosfotirosina
SHBG	Globulina Ligadora de Hormônios Sexuais
STAT	Proteína de Transdutor de Sinal e de Ativador de Transcrição
ul	Microlitro

---

---

<b>1 INTRODUÇÃO</b>	12
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA</b>	13
2.1 Sistema Endócrino na Regulação da Homeostase	13
2.1.1 Classificação Química e Solubilidade	15
2.1.2 Síntese Hormonal	16
2.1.3 Sistema de Retroalimentação (Feed Back)	16
2.1.4 Transporte Plasmático dos Hormônios	17
2.1.5 Mecanismo de Ação dos Hormônios que Ligam-se a Proteínas Receptoras Nucleares	19
2.1.6 Mecanismos de Ação Hormonal Mediado por Segundos Mensageiros	20
2.2 Testosterona – Um Hormônio Androgênio	23
2.2.1 Síntese e Secreção	24
2.2.2 Metabolismo Hormonal	25
2.2.3 Mecanismo de Ação	25
2.2.4 Eixo Hipotálamo-Hipófise-Gônadas	26
2.3 Transferência de Energia Biológica	28
2.3.1 Metabolismo Anaeróbico (Via Glicolítica)	29
2.3.2 Formação e Remoção do Lactato	32
2.3.3 Influência do Exercício Físico nas Concentrações Plasmáticas de Testosterona	33
<b>3 METODOLOGIA</b>	35
3.1 Animais	35
3.2 Protocolos Experimentais	35
3.3 Adaptação ao Exercício de Natação	36

---

---

3.4 Exercício Exaustivo por Meio da Natação	36
3.5 Administração de Ácido Láctico	37
3.6 Análise do Lactato Sanguíneo	37
3.7 Análise da Testosterona Livre	37
3.8 Análise Estatística	38
<b>4 RESULTADOS</b>	39
4.1 Concentração Média de Lactato Sanguíneo Entre os Grupos	39
4.2 Concentração Média de Testosterona Livre Entre os Grupos	40
<b>5 DISCUSSÃO</b>	41
<b>6 CONCLUSÃO</b>	44
<b>REFERÊNCIAS</b>	45

---

## 1 INTRODUÇÃO

A testosterona é o principal hormônio esteróide androgênico sintetizado principalmente pelas células de Leydig nos testículos. Sua síntese e secreção são controladas pelo eixo hipotálamo-hipófise, que por sua vez pode ser controlado por diversos estímulos (AIRES, 2008). Devido aos seus efeitos anabólicos sobre as fibras musculares e seus efeitos neurais (MCARDLE & KATCH, 2003), pode-se atribuir a testosterona como um dos principais hormônios envolvidos nas adaptações ao treino de força.

Alguns métodos utilizados em treinamentos para ganhos de força proporcionam grandes acúmulos de lactato (GENTIL, 2005). De acordo com Powers & Howley. (2005), o lactato é um produto formado a partir do processamento anaeróbico da glicose, ou seja, ocorre sem a participação do oxigênio, envolvendo uma série de reações enzimáticas.

Estudos observam alterações nas concentrações plasmáticas de testosterona decorrente da realização de determinados protocolos de exercício físico. Em estudo realizado por Colinho, Brinco & Diniz. (2007), verificou-se uma diminuição na concentração da testosterona plasmática em resposta a uma sessão de exercício resistido. Em contrapartida estudo apresentou uma tendência a queda nas concentrações de testosterona (KRAEMER *et al.* 1999, *apud* GENTIL, 2005). Esses estudos apontam o exercício resistido como possível responsável pela alteração na concentração da testosterona plasmática, embora não justifiquem os possíveis estímulos dentre os produzidos durante a prática desses exercícios.

Considerando a importância de elucidar um possível estímulo para síntese e secreção de testosterona, a partir da prática de exercícios físicos de alta intensidade, a fim de beneficiar-se dos efeitos sinalizados por esse hormônio, e com isso subsidiar ainda mais a prescrição de exercício físico, que o presente estudo pretende analisar a possível participação do lactato na secreção de testosterona em ratos.

## **2 REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1 Sistema Endócrino na regulação da homeostase**

O sistema endócrino e o sistema nervoso são responsáveis por coordenar diversas atividades das células, tecidos e órgãos do corpo a partir de mensageiros químicos denominados respectivamente de hormônios e neurotransmissores. Enquanto os neurotransmissores são liberados por terminais axônicos de neurônios em um espaço chamado de fenda sináptica, os hormônios são produtos químicos liberados e transportados pela corrente sanguínea em pequenas concentrações a partir de glândulas ou células especializadas, onde sinalizarão uma resposta fisiológica determinada em outras células. Podendo ainda ser encontrado outra classe de mensageiros, conhecidos como neuro-hormônio, no qual são substâncias químicas secretadas por neurônios na corrente sanguínea, que influenciam a atividade celular em outra parte do corpo (GUYTON & HALL, 2006).

As glândulas são formadas por epitélio glandular, sendo classificadas como endócrinas e exócrinas, onde a primeira é responsável pela secreção de substâncias químicas (hormônios) no líquido intersticial, onde em seguida difundem-se para corrente sanguínea, enquanto que a segunda secreta seus produtos que não são classificados como hormônios para ductos, sendo conduzidos para superfície de revestimento epitelial ou para uma superfície livre. Destacam-se como glândulas endócrinas a adenohipófise, tireóide, paratireóide, adrenal, e pineal, enquanto que as glândulas sudoríparas, sebáceas, mucosas e digestivas são exemplos de glândulas exócrinas (TORTORA & GRABOWSKI, 2000).

A resposta fisiológica aos hormônios é sinalizada através de sua ligação com receptores específicos, sendo classificados como proteínas ou glicoproteínas, que por sua vez podem estar presentes na membrana plasmática, ligadas a outras proteínas no citoplasma ou no núcleo da célula-alvo. Essas proteínas receptoras são componentes dinâmicos da célula, nas quais podem sofrer modificações no número e na sua afinidade com os hormônios, em resposta as concentrações hormonais. Quando um hormônio está presente em altas concentrações no plasma o número e a afinidade dos receptores presentes na célula diminui, ocasionando uma redução

da responsividade da célula-alvo ao hormônio, esse mecanismo é conhecido como infra-regulação (down-regulation), o inverso ocorre quando há uma diminuição da concentração do hormônio, que é capaz de induzir um aumento no número e na afinidade dos receptores, ocasionando um aumento da responsividade da célula-alvo ao hormônio, mecanismo conhecido como supra-regulação (up-regulation). Em outras palavras, a quantidade e afinidade dos receptores presente nas células são inversamente proporcionais a concentração do hormônio (HOUSSAY & CINGOLANI, 2004).

Ganong (2006), afirma que em alguns casos a infra-regulação dos receptores localizados na membrana da célula é decorrente da endocitose mediada por receptor, mecanismo no qual o ligante hormonal acoplado ao receptor específico, desloca-se lateralmente na membrana ao encontro das depressões revestidas por clatrina, onde são captados pela célula num processo denominado de endocitose, em consequência ocorre temporariamente uma diminuição no número de receptores disponíveis. A vesícula que foi formada contendo o complexo hormônio-receptor funde-se com o endossoma inicial, onde em seguida parte dos receptores será incorporado novamente na membrana e parte será degradado junto com seu ligante nos lisossomas.

Além dessas adaptações fisiológicas, a exposição prolongada de determinado hormônio pode acarretar em dessensibilização do receptor, processo que pode ser classificado como dessensibilização homóloga ou heteróloga, onde a primeira é caracterizada pela perda da responsividade ao ligante específico, com a manutenção da resposta da célula-alvo a outros ligantes, enquanto que a segunda torna-se insensível também a outros ligantes (GANONG, 2006).

De acordo com a comunicação intercelular, ou seja, do local onde o hormônio atua por meio de sua ligação com seu receptor específico em relação à célula que o secretou, pode ser classificado de quatro formas. A comunicação **endócrina** ou **telócrina** ocorre quando um hormônio é secretado por uma determinada célula no líquido intersticial, onde em seguida difunde-se para circulação sanguínea a fim de ser transportado para células-alvo distantes, as quais o hormônio exerce seu efeito biológico. A comunicação **parácrina** ocorre quando o hormônio liberado por uma determinada célula liga-se a receptores específicos em células vizinhas, sem que

haja a necessidade de ser transportado pela corrente sanguínea. A comunicação **autócrina** ocorre quando o hormônio produz seu efeito biológico na mesma célula que o secretou, a partir de sua ligação com receptores específicos. Além dessas comunicações, foi sugerida recentemente a comunicação **intrócrina**, onde o hormônio atua intracelularmente na mesma célula que o sintetizou, podendo ser observado em alguns dos efeitos dos estrogênios derivados dos androgênios (MOLINA, 2007).

### *2.1.1 Classificação Química e Solubilidade*

Com base na estrutura química os hormônios podem ser classificados em aminados, polipeptídicos e protéicos, glicoprotéicos e esteróides. Os aminados são hormônios derivados dos aminoácidos tirosina e triptofano, onde a adrenalina, noradrenalina dopamina, triiodotironina, tiroxina e a melatonina são exemplos de hormônios aminados. Os hormônios polipeptídicos geralmente contêm menos de cem aminoácidos, tendo como exemplo o hormônio antidiurético. Já os protéicos contêm cem ou mais de cem aminoácidos, como é o caso do hormônio do crescimento humano. Os glicoprotéicos consistem em uma proteína ligada a um ou mais grupos carboidratos, como pode ser observado nas gonadotrofinas. Os hormônios esteróides são derivados do colesterol, sendo incluídos nessa categoria os hormônios testosterona, estradiol, progesterona e cortisol. Os hormônios podem ainda ser classificados quanto a sua solubilidade, sendo divididos em polares (hidrossolúveis) e apolares (hidrofóbicos). (FOX, 2007).

Este autor comenta ainda que como os hormônios apolares são solúveis em lipídeos, freqüentemente podem ser denominados de lipofílico, que ao contrário dos hormônios polares, conseguem atravessar as membranas celulares e ligar-se à receptores no meio intracelular de suas células-alvo. Os hormônios esteróides e tireoideanos são exemplos de hormônios lipofílicos, enquanto que os hormônios tróficos da adeno-hipófise são exemplos de hormônios polares.

### *2.1.2 Síntese Hormonal*

Os hormônios aminados são assim chamados por conservarem um radical amino em sua estrutura química, sendo sintetizados a partir de reações químicas nas quais modificam a estrutura química de certos aminoácidos, como por exemplo, da tirosina e do triptofano, sendo essas reações catalisadas por enzimas específicas (TORTORA & GRABOWSKI, 2000). Como podem ser observadas, as catecolaminas são sintetizadas a partir de modificações do aminoácido tirosina, onde incluem reações de hidroxilação, descarboxilação e metilação. Diferentemente os hormônios esteróides são sintetizados a partir do colesterol, onde envolve uma série seqüencial de reações enzimáticas distintas, estando essas enzimas presentes nas mitocôndrias e retículo endoplasmático liso (BERNE & LEVY, 2000).

Os hormônios protéicos e polipeptídicos são sintetizados da mesma forma que muitas outras proteínas. Onde após a transcrição genética o respectivo RNAm é traduzido na extremidade rugosa do retículo endoplasmático das diferentes células endócrinas, com a formação de uma proteína maior denominada de pré-pró-hormônio. Essa proteína que é biologicamente inativa sofre processamento no retículo endoplasmático rugoso, com a conseqüente formação de um pró-hormônio menor, que se difunde para o aparelho de golgi a fim de ser acondicionado em vesículas secretoras. Enzimas proteolíticas presentes nas vesículas clivam o pró-hormônio para produzir o hormônio biologicamente ativo e fragmentos inativos. Quando um determinado estímulo sinaliza a exocitose dessas vesículas, tanto o hormônio ativo quanto seus fragmentos são liberados para o líquido intersticial, podendo em seguida passar para circulação sanguínea (GUYTON & HALL, 2006).

### *2.1.3 Sistema de Retroalimentação (Feed Back)*

No organismo humano existem varias formas de controle para manutenção da homeostase, no caso do sistema endócrino o mecanismo de retroalimentação é fundamental para esse controle. Esse mecanismo corresponde a um controle da secreção de um determinado hormônio, de forma direta ou indireta, a partir da ação biológica do mesmo, podendo ser classificado como retroalimentação negativa ou positiva. Na retroalimentação negativa a resposta desencadeada por um determinado hormônio inibe a secreção posterior do mesmo, como pode ser

observado no controle da glicemia. Quando há uma diminuição da glicemia ocorre um aumento na síntese e secreção do hormônio glucagon a partir das células  $\alpha$  das ilhotas de Langerhans, que por sua vez sinaliza a glicogenólise hepática, aumentando dessa forma a glicemia. O retorno da glicemia a valores predeterminados inibe a secreção posterior de glucagon. Esse exemplo corresponde a um mecanismo de retroalimentação negativa simples com apenas uma alça, onde em algumas situações existe a presença de uma segunda alça que é responsável pelo controle em direções opostas, como pode ser observado pela ação da insulina, que inibe a glicogenólise hepática, na qual é liberada em resposta a um aumento da glicemia. Esses controles antagônicos são responsáveis pela manutenção da homeostase em qualquer direção (HOUSSAY & CINGOLANI, 2004).

O mecanismo de retroalimentação positiva atua de forma contrária, onde a resposta gerada por um determinado hormônio aumenta a secreção do mesmo, que por sua vez potencializa sua resposta. Esse mecanismo é pouco encontrado nos sistemas biológicos. Um exemplo clássico ocorre no final da gravidez, onde a distensão do colo do útero ativa o reflexo neuroendócrino do parto, a partir de mecanorreceptores que enviam a informação (impulso nervoso) via aferente sistema nervoso autônomo para neurônios magnocelulares ocitocinérgicos, originados nos núcleos supra-ópticos e paraventriculares do hipotálamo. Essa informação induz um aumento na frequência pulsátil de ocitocina, na qual sinaliza a contração do efetor miometrial, ocasionando uma maior distensão do colo do útero (MOLINA, 2007).

#### *2.1.4 Transporte Plasmático dos Hormônios*

Os hormônios hidrossolúveis podem circular livremente no plasma, ou seja, sem que haja a necessidade de sua ligação com proteínas transportadoras, embora alguns sejam transportados, como no caso da somatotropina que 60% está conjugada com sua proteína de ligação. Essa proteína é derivada da clivagem proteolítica do receptor na membrana para a somatotropina, por metaloproteases (MOLINA, 2007). No entanto os hormônios lipossolúveis precisam conjugar-se com proteínas transportadoras, para que possam ser transportados pela circulação sanguínea. Essas proteínas são sintetizadas no fígado, podendo ser classificadas de

acordo com o grau de especificidade, onde a albumina e a pré-albumina estão classificadas como não-específicas, pois têm a capacidade de ligar-se a qualquer hormônio, enquanto que a globulina de ligação da tiroxina, pré-albumina de ligação da tiroxina, globulina ligadora de testosterona e a globulina ligadora de cortisol apresentam alta afinidade e especificidade. Essas proteínas transportadoras são responsáveis pelo transporte de mais de 95% do hormônio total presente no plasma, onde o restante representa a fração livre, sendo essa a responsável direta pela ligação com seu receptor específico na célula alvo. A partir do momento que a concentração livre do hormônio diminui, moléculas do hormônio ligadas às proteínas transportadoras são liberadas a fim de manter constante a oferta tecidual. Entretanto evidências recentes demonstram que apesar da concentração ligada ser maior que a livre no sangue periférico, a nível capilar a fração livre aumenta para mais de 50% devido à baixa velocidade do sangue e a força de atração que proteínas celulares exercem sobre os hormônios circulantes. Após a passagem pelo capilar a proporção entre a fração livre e a ligada volta ao normal (AIRES, 1999).

A síntese e secreção de determinado hormônio pode ser controlada pela concentração de suas proteínas transportadoras no sangue, em outras palavras o aumento das proteínas transportadoras ocasiona uma diminuição na fração livre decorrente de sua conjugação com o hormônio, ocasionando um aumento na síntese e secreção hormonal a fim de manter a fração livre equilibrada, enquanto que uma diminuição na concentração das proteínas transportadoras pode acarretar em diminuição da taxa de síntese e secreção do hormônio. Por fim essas proteínas transportadoras funcionam como um reservatório do hormônio presente na corrente sanguínea, fazem com que os hormônios hidrofóbicos fiquem temporariamente solúveis em água e dessa forma possam difundir-se no plasma, e aumentam a meia-vida do hormônio, ou seja, o tempo que leva para metade da substância se metabolizada (MOLINA, 2007).

### *2.1.5 Mecanismo de ação dos hormônios que se ligam a proteínas receptoras nucleares*

Os hormônios esteróides e tireoideanos são lipofílicos, para que possam controlar a atividade celular, se faz necessário a presença de receptores específicos, os quais são denominados receptores hormonais nucleares, por atuarem no interior do núcleo da célula regulando a expressão gênica, ou seja, induzindo ou reprimindo a iniciação da transcrição de genes específicos no DNA. Desse modo os receptores hormonais nucleares atuam como fatores de transcrição, havendo a necessidade de serem ativados pela ligação de um ligante hormonal (FOX, 2007).

Essa transcrição corresponde a uma cópia de um gene específico a partir de um dos filamentos do DNA (filamento com sentido), em um filamento de RNAm. O RNAm recém-formado irá dirigir a síntese de novas proteínas, em geral, enzimas, nos ribossomos, onde essas enzimas irão alterar o metabolismo da célula alvo de modo característico aos efeitos do hormônio, como ocorre no exemplo do aumento dos níveis de enzimas gliconeogênicas e conseqüentemente aumento da produção de glicose induzido por hormônios glicocorticóides (TORTORA & GRABOWSKI, 2000).

O receptor hormonal nuclear apresenta dois domínios, um domínio de ligação do ligante e um domínio de ligação do DNA, onde o primeiro combina-se com o sinalizador hormonal, enquanto que o segundo liga-se a uma área específica não transcricional no DNA, denominada de elemento de resposta ao hormônio, na qual consiste em dois meios-sítios, cada qual formado por seis bases nucleotídeas e separados por um segmento espaçador de três nucleotídeos. É uma área responsável por controlar a transcrição genética, localizada adjacente ao gene que será transcrito. Muitos receptores para os hormônios esteróides estão localizados no citoplasma da célula, ligados a proteínas de choque térmico (hsp), na qual recebe essa denominação porque quando as células são expostas a altas temperaturas, ocorre um aumento em sua síntese (HOUSSAY & CINGOLANI, 2004).

Quando o hormônio difunde-se através da membrana e liga-se ao domínio de ligação do ligante no receptor, ocorre uma alteração na sua conformação, fazendo com que o receptor se dissocie do complexo multiprotéico formado pelas proteínas de choque térmico (hsp90, hsp70 e hsp56), entre outras. Pois essas proteínas quando ligadas ao receptor nuclear, mantêm a configuração do receptor capaz de ligar-se ao hormônio, mas não ao elemento de resposta ao hormônio, no DNA.

Então o receptor ligado ao hormônio traslada-se em direção ao núcleo, onde o domínio de ligação do DNA do receptor conecta-se com um dos meios-sítios do elemento de resposta ao hormônio, onde outro receptor para os esteróides conecta-se com o outro meio-sítio, ocorrendo uma dimerização, como os dois receptores possuem a mesma natureza química, diz-se que os receptores para os esteróides são uma espécie de homodímero. A partir dessa dimerização ocorre a ativação da transcrição gênica, síntese de RNAm a partir da RNA polimerase (enzima), onde em seguida será traduzido nos ribossomos, e dessa forma possa ocorrer a síntese de novas proteínas (POIAN & CARVALHO-ALVES, 2006).

Os receptores para alguns hormônios esteróides como o estradiol, assemelham-se aos receptores tireoidianos por estarem localizados no núcleo, ligados ao elemento de resposta ao hormônio, essa ligação inibe a transcrição gênica enquanto não houver a formação do complexo hormônio-receptor. Sabe-se que esses receptores estão associados a um complexo de proteínas, no núcleo, contendo proteínas co-repressoras. A partir do momento que ocorre a ligação do hormônio com o receptor, as proteínas co-repressoras dissociam-se enquanto que um co-ativador associa-se com o receptor, modulando dessa forma a transcrição gênica. Para que os hormônios tireoidianos possam ativar a transcrição gênica a partir de seus receptores, há necessidade da presença do ácido 9-cis-retinóico, derivado da vitamina A, que por sua vez liga-se com seu receptor específico (RXR), para formar um heterodímero com os receptores dos hormônios tireoidianos (RT), nos pares de hexanucleotídeos específicos das respectivas áreas promotoras de uma série de genes do DNA (FOX, 2007).

### *2.1.6 Mecanismos de ação hormonal mediado por segundos mensageiros*

Além dos hormônios lipossolúveis existem os hidrossolúveis, que por sua vez não podem interagir com os receptores nucleares hormonais, ao contrario ligam-se a proteínas transmembrana (receptores), que transmitem sinais a alvos intracelulares. Esses receptores podem ser classificados em receptores acoplados a proteína G, receptores das tirosinocinases e o receptor da cinase ligado ao receptor. Os

receptores acoplados às proteínas G são formados por sete segmentos transmembrana que fazem alça com o meio extra-celular e o citossol. A maioria das alças que fazem protrusão para o citossol, principalmente a cauda citoplasmática, acopla-se a proteínas da membrana celular denominadas de proteínas heterotriméricas de ligação ao nucleotídeo guanosina, conhecida como proteína G. Proteína essa formada por três subunidades ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ). Antes de ocorrer à ligação do hormônio com o receptor na porção voltada para o líquido intersticial, a subunidade  $\alpha$  está ligada ao GDP, que é trocado pelo GTP a partir do momento que ocorrer a ligação do hormônio com o receptor. Essa ligação altera a conformação do receptor, fazendo com que se associe com a proteína G, e conseqüentemente ocorra a substituição de GDP por GTP na subunidade  $\alpha$ , tornando dessa forma a proteína G ativa. A ativação da mesma ocasiona sua dissociação com o receptor e da subunidade  $\alpha$  com o complexo  $\beta$  e  $\gamma$ , sendo dessa forma capaz de ativar ou inativar determinados canais iônicos (metabotrópicos) ou enzimas. Em seguida a porção catalítica (GTPase) da subunidade  $\alpha$ , catalisa a hidrólise do GTP em GDP, ocasionando novamente sua associação com o complexo  $\beta$  e  $\gamma$ , e conseqüentemente a formação da proteína heterotrimérica inativa (MOLINA, 2007).

As principais enzimas que interagem com a proteína G são a adenilato ciclase e a fosfolipase C, havendo seletividade na interação de acordo com o tipo de proteína G associada ao receptor, na verdade é determinada pelo tipo de subunidade  $\alpha$  que ela apresenta. Nas quais destacam as subunidades  $\alpha_s$ , ativa a adenilato ciclase, a  $\alpha_i$ , inibe a adenilato ciclase, a  $\alpha_q$ , ativa a fosfolipase C, e a subunidade  $\alpha_0$ , que por sua vez pode abrir ou fechar canais iônicos da membrana. A adenilato ciclase ativada pela subunidade  $\alpha_s$ , catalisa a formação de AMPc a partir do ATP, classificado como segundo mensageiro, o AMPc participa na ativação da proteína cinase A, dependente de AMPc, na qual é formada por quatro subunidades, onde duas delas são classificadas como regulatórias (inibitórias), quando o AMPc liga-se com essas subunidades promove a sua dissociação com as duas subunidades catalíticas (ativas). Essa enzima em seu estado ativo participa da fosforilação de proteínas, no geral enzimas, nas quais podem ser ativadas ou inativadas, estando desta forma envolvida nas respostas específicas das células-alvo ao hormônio. O AMPc que não está ligado a porção regulatória acaba sendo

hidrolisado pela enzima fosfodiesterase, formando dessa forma um fragmento inativo, 5'-AMP, então diminui-se a concentração de AMPc a partir do momento que não houver mais a formação do complexo hormônio-receptor (POIAN & CARVALHO-ALVES, 2006).

A adenilato ciclase poderá ser inibida caso o hormônio interaja com o receptor associado a proteína G $\alpha_i$ , sinalizando uma diminuição da concentração de AMPc, conseqüentemente diminuindo a resposta da célula-alvo ao hormônio que atua por meio do aumento da concentração de AMPc intracelular. Outra enzima de membrana ativada pela interação com a proteína G é a fosfolipase C, na qual interage com a subunidade  $\alpha_q$ , para catalisar a formação de outros segundos mensageiros a partir de um lipídio da membrana denominado de bifosfato de fosfatidilinositol (PIP<sub>2</sub>). Os mensageiros formados são o inositol-1,4,5-trifosfato (IP<sub>3</sub>) e o diacilglicerol (DAG), onde o primeiro liga-se a receptores específicos acoplados com canais para cálcio na membrana do retículo endoplasmático liso e mitocôndrias, mobilizando íons cálcio para o citossol, enquanto que o segundo ativa uma proteína cinase C responsável por fosforilar outras enzimas, sendo também um precursor para as prostaglandinas. O cálcio mobilizado a partir do IP<sub>3</sub> liga-se com uma proteína chamada calmodulina, na qual apresenta quatro sítios de ligação para esse cátion, quando os três ou quatro sítios são ocupados pelo cálcio ocorre uma alteração em sua conformação capaz de ativar uma proteína cinase dependente de cálcio-calmodulina, responsável pela fosforilação de proteínas envolvidas nas respostas das células-alvo ao hormônio. O cálcio também é considerado um segundo mensageiro, que além de participar da ativação de enzimas específicas, é responsável pela contração muscular (esquelético, cardíaco e liso) e pela exocitose de vesículas contendo mensageiros químicos (GUYTON & HALL, 2006).

Os receptores protéicos das tirosinocinases apresentam duas cadeias leves situadas na superfície da célula e outras duas cadeias pesadas transmembranas, onde as duas últimas apresentam atividade tirosinocinase intrínseca em suas porções citoplasmática, ou seja, constitui-se de enzimas nas quais transferem um grupo fosforila do ATP para o grupo hidroxila dos resíduos de tirosina em seu próprio receptor formado por duas unidades, processo denominado de autofosforilação. Em situações fisiológicas ocorre apenas quando o hormônio liga-se ao domínio de

ligação do ligante nas cadeias leves, alterando assim sua conformação, que por sua vez é transmitida para as cadeias pesadas, ocorrendo uma dimerização, dessa forma cada uma das cadeias pesadas catalisa a fosforilação da outra. Essa autofosforilação abre o sítio ativo, permitindo que a enzima fosforile resíduos de tirosina de outras proteínas-alvo que apresentam domínios de reconhecimento específico para fosfotirosina (SH2 e SH3). Essas proteínas fosforiladas controlam atividades intracelulares, como no caso da STAT (proteína de transdutor de sinal e de ativador de transcrição), IRS (substrato do receptor da insulina) entre outras, nas quais ativam uma cascata de reações. Os fatores de crescimento semelhantes à insulina (IGF) e a própria insulina utilizam essa via de receptores. O receptor da cinase ligada ao receptor diferentemente não possui uma atividade catalítica intrínseca, ao contrario liga-se a uma enzima tirosina cinase que apresenta um sítio de ligação ao receptor e outro sítio ativo que irá catalisar a fosforilação do receptor (RAW & LEE HO, 2000). Essa enzima é da família Janus Kinase, *“chamado assim em referencia ao deus Janus que possuía duas faces opostas”*. A somatotropina, eritropoietina, leptina e prolactina são exemplos de hormônios que utilizam esses receptores para controlar a maquinaria celular (POIAN & CARVALHO-ALVES, 2006).

Os receptores hormonais podem sofrer influência quanto ao número, a partir de determinados estímulos. Como podemos observar, o treinamento resistido pode influenciar no aumento do número de receptores musculares para testosterona, com isso aumentando a sensibilidade do músculo ao hormônio. Essa ação ocorre especificamente nas fibras de contração rápida (BACURAU, NAVARRO & UCHIDA, 2005).

## **2.2 Testosterona - Um Hormônio Androgênio**

Os testículos são responsáveis pela espermatogênese e síntese de hormônios. A testosterona é um hormônio sexual sintetizado em maiores quantidades nos homens que nas mulheres, sendo classificado como androgênico por ser responsável pelas características sexuais masculinas (COSTANZO, 2007).

### 2.2.1 Síntese e Secreção

A síntese da testosterona envolve uma série de reações enzimática nas células testiculares de Leydig, sendo o colesterol a molécula precursora, que pode ser captado do plasma por meio de endocitose de lipoproteínas, derivado do reservatório citossólico, conhecido como reservatório citoplasmático esteroidogênico, ou pode ser sintetizado na própria glândula a partir do acetato. A primeira reação necessária para que ocorra a síntese da testosterona é a mobilização do colesterol a partir dos ésteres colesteril, catalisada pela enzima colesterol esterase. Em seguida o colesterol sofre clivagem de sua cadeia lateral dando origem a pregnenolona, reação que ocorre na membrana mitocondrial interna pela ação da enzima de clivagem da cadeia lateral do citocromo p450 (p450scc). Para que o colesterol constitua um substrato da p450scc, se faz necessário a presença da proteína reguladora aguda da esteroidogênese, que tem por finalidade mediar a transferência do colesterol livre da membrana mitocondrial externa para a membrana mitocondrial interna (MOLINA, 2007).

A pregnenolona recém-formada difunde-se para o retículo endoplasmático liso, onde sofrerá ação da enzima  $3\beta$ -hidroxiesteróide-desidrogenase, dando origem a progesterona. Em seguida ocorre a hidroxilação da progesterona a partir da enzima  $17\alpha$ -hidroxilase, dando origem a  $17\alpha$ -OH-progesterona. Essa enzima também é responsável pela conversão da pregnenolona em  $17\alpha$ -OH-pregnenolona. Tanto a  $17\alpha$ -OH-progesterona como a  $17\alpha$ -OH-pregnenolona dão origem aos androgênios androstenediona e desidroepiandrosterona (DHEA) respectivamente, mediada pela enzima  $17,20$ -liase. A DHEA também pode ser convertida em androstenediona pela ação da enzima  $3\beta$ -hidroxiesteróide-desidrogenase. Finalmente a androstenediona converte-se em testosterona, reação catalisada pela enzima  $17\beta$ -hidroxiesteróide-desidrogenase. Como a testosterona não pode ser armazenada em grânulos secretórios, após sua síntese abandona a célula por transferência através da membrana plasmática (HOUSSAY & CINGOLANI, 2004).

### *2.2.2 Metabolismo Hormonal*

A partir de uma reação de redução mediada pela enzima 5 $\alpha$ -redutase e 3 $\alpha$ -redutase, a testosterona pode dá origem a 5 $\alpha$ -diidrotestosterona (DHT) e a 3 $\alpha$ , 5 $\alpha$ -androstenediol respectivamente nos tecidos periféricos (BERNE & LEVY, 2000). Cerca de menos de 1% da testosterona pode ser convertida em estradiol e estrona através da ação enzimática da aromatase, que pode estar presente nas próprias células de Leydig, nas células de Sertoli, em regiões do sistema nervoso central, tecido adiposo, tecido ósseo e próstata (AIRES, 2008).

A testosterona é um hormônio lipossolúvel, onde 98% da testosterona total presente na circulação sanguínea estão conjugadas com proteínas plasmáticas, dentre elas estão à albumina e a globulina ligadora de hormônios sexuais (SHBG), onde essa última liga-se a 65% da testosterona total, apresentando maior afinidade com a testosterona e estradiol, podendo ainda ligar-se com a diidrotestosterona. Com isso cerca de 2% da testosterona circulante fica disponível na forma livre, ou seja, sem ligação com as proteínas plasmáticas. Quando a fração livre é captada pelas células alvo, ocorre imediatamente a dissociação do hormônio com sua proteína transportadora, a fim de manter a concentração da testosterona livre. A testosterona pode ser excretada na urina como glucuronídeo de testosterona e 17-cetoesteróides, metabólitos com pouca ou nenhuma ação androgênica (BERNE & LEVY, 2000).

### *2.2.3 Mecanismo de Ação*

A testosterona atua por meio de sua ligação com receptores específicos nucleares, sendo que em determinadas células-alvo pode sofrer ação da enzima 5 $\alpha$ -redutase, com a conseqüente formação da diidrotestosterona. A conjugação desses androgênios com seus receptores ocasionam uma alteração conformacional que resulta em sua dissociação com as proteínas de choque térmico (hsp). Essa dissociação dá origem ao complexo androgênio-receptor, que em seguida associa-se com outro complexo androgênio-receptor para formar um homodímero e dessa forma possam ligar-se ao elemento de resposta aos androgênios no DNA. Esse

processo resulta na ativação de uma RNA polimerase e conseqüentemente na transcrição de genes específicos que resultam em síntese protéica, onde essas novas proteínas desencadearão as respostas específicas aos androgênios (AIRES, 2008).

A diidrotestosterona é o androgênio mais potente, pois quando ligada ao seu receptor apresenta meia-vida mais longa, que por sua vez amplifica a ação androgênica. Entretanto pode-se atribuir respostas distintas aos androgênios testosterona e diidrotestosterona, sendo o primeiro responsável pelo controle da diferenciação sexual, libido, crescimento puberal da laringe, anabolismo muscular e sinalização da espermatogênese, enquanto que o segundo desempenha importante papel nas virilizações externa embrionária e puberal e é o principal responsável pela calvície masculina em indivíduos com pré-disposição genética. As respostas fisiológicas atribuídas a diidrotestosterona são na maior parte intrácrina, mediada nas células-alvo que expressam a enzima 5 $\alpha$ -redutase (MOLINA, 2007).

#### *2.2.4 Eixo Hipotálamo-Hipófise-Gônadas*

A síntese e secreção da testosterona são controladas pelo hormônio luteinizante (LH), conhecido também como gonadotrofina. O LH é produzido pelos gonadotrofos, células basófilas localizadas predominantemente na região pósterolateral da adenoipófise, sendo também responsáveis pela síntese e secreção de outra gonadotrofina denominada de hormônio folículo-estimulante (FSH), na qual é responsável pela sinalização da espermatogênese. As gonadotrofinas são glicoproteínas heterodiméricas constituídas de uma subunidade  $\alpha$  comum e uma subunidade  $\beta$  exclusiva, na qual confere especificidade biológica a cada hormônio. Em geral esses hormônios são expressos pela mesma célula, embora alguns gonadotrofos apresentem apenas um desses hormônios (MOLINA, 2007).

As gonadotrofinas se difundem para circulação sanguínea através do plexo secundário do sistema porta hipofisário, plexos esses do tipo sinusóide. As células gonadotrópicas são controladas por células neuro-secretora (neurônios), localizadas no núcleo arqueado do hipotálamo, a partir da secreção de um neuropeptídeo de 10

aminoácidos denominado de neuro-hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH) (GUYTON & HALL, 2006).

Esse decapeptídeo é sintetizado a partir da transcrição do gene da pré-pró-GnRH, onde a partir do RNAm formado origina-se sua respectiva proteína, que em seguida sofre processamento enzimático no retículo endoplasmático rugoso, originando dessa forma o pró-GnRH que difunde-se para o complexo de golgi, onde formam-se grânulos de secreção contendo o pró-GnRH, o GnRH e o peptídeo associado ao GnRH (GAP), a partir de processamento enzimático nos próprios grânulos. A secreção desses peptídeos pode ser estimulada pela noradrenalina, a partir da ativação de receptores  $\alpha$ -adrenérgicos. Em contrapartida a ativação dos receptores  $\beta$ -adrenérgicos causam inibição da secreção de GnRH, além da inibição induzida pela aferência de neurônios contendo opióides endógenos, neurônios gabaérgicos e pela própria testosterona, onde essa última atua por meio do sistema de retroalimentação negativa (AIRES, 2008).

Quando o GnRH é secretado difunde-se para o plexo primário do sistema porta hipofisário, formado a partir das artérias hipofisárias superiores, sendo conduzido pelas veias porta hipofisárias para o plexo secundário do sistema porta hipofisário, onde em seguida difunde-se para o líquido intersticial em torno das células gonadotróficas, para que possam interagir com seus receptores serpentínicos acoplados as proteínas heterotriméricas de ligação a guanosina (Gq). Essa interação ativa a enzima fosfolipase C, na qual catalisa a formação de IP<sub>3</sub> e DAG a partir de um fosfolípido da membrana denominado de 4,5-bifosfato de fosfatidilinositol. Como consequência ocorre um aumento na concentração citossólica de cálcio e ativação das proteínas cinases C e as dependentes de cálcio-calmodulina. Essa cascata de sinalização aumenta a transcrição dos genes das subunidades  $\alpha$  e  $\beta$  do LH e FSH, além da liberação dessas gonadotrofinas para a circulação sanguínea (GANONG, 2006).

As gonadotrofinas quando liberadas para circulação sanguínea, atuam por meio de sua ligação com receptores serpentínicos acoplados as proteínas heterotriméricas de ligação a guanosina (Gs). Essa ligação proporciona um aumento na concentração citossólica de AMPc, a partir da ativação de uma enzima da membrana denominada de adenilato ciclase. O AMPc por sua vez é responsável

pela ativação da proteína heterotetramérica cinase A, que por sua vez fosforila outras proteínas, as quais são responsáveis pela resposta da célula-alvo em relação as gonadotrofinas (GANONG, 2006). No caso específico do hormônio luteinizante a célula responde por aumentar a mobilização e transporte do colesterol na via esteroidogênica, além de mediar a estimulação da expressão gênica e atividade da proteína reguladora aguda da esteroidogênese e da enzima de clivagem da cadeia lateral do citocromo p450. A partir dessas respostas ocorre um aumento na síntese e secreção de testosterona (MOLINA, 2007).

A testosterona secretada pelas células de Leydig pode suprimir a secreção tanto do GnRH quanto do LH, por meio de um sistema de retroalimentação negativa. Um exemplo clássico é observado na castração de um animal do sexo masculino, que resulta no aumento da secreção de LH e FSH. Quando administrada a testosterona exógena a esse animal, a secreção de LH pode retornar ao nível anterior à castração. No entanto pode-se observar que a quantidade de testosterona que é suficiente para inibir a secreção de LH não é suficiente para inibir a do FSH na maioria dos animais de laboratório, havendo a participação de outro hormônio no controle da secreção de FSH. Esse hormônio produzido pelas células testiculares de Sertoli é denominado inibina, que por sua vez atua especificamente na inibição da secreção de FSH por meio do sistema de retroalimentação negativa. Para que a testosterona possa suprimir a secreção de LH, é necessária sua conversão em  $17\beta$ -estradiol, reação catalisada pela enzima aromatase (FOX, 2007).

## **2.3 Transferência de Energia Biológica**

Os seres humanos necessitam de um fornecimento contínuo de energia química, onde parte dela é aproveitada para realização de trabalho mecânico, químico ou de transporte, e o restante é dissipado na forma de calor para o meio ambiente. A energia potencial contida nos carboidratos, lipídios e proteínas não pode ser transferida diretamente para realização de trabalho biológico nas células, ao contrário a energia proveniente da oxidação dos macronutrientes é transferida para o nucleotídeo trifosfato de adenosina (ATP), a partir de reações químicas catalisadas por enzimas. O ATP é a molécula ideal para a transferência de energia,

onde ao se combinar com a água, em uma reação de hidrólise catalisada pela enzima adenosina trifosfatase (ATPase), cliva a ligação fosfato mais externa para liberar um íon fosfato, essa reação de hidrólise do ATP disponibiliza energia livre para a realização de trabalho biológico, além de formar uma molécula de menor energia potencial, o ADP, que quando fosforilado ressintetiza uma molécula de ATP (ASTRAND *et al.* 2006).

O ATP é comparado a uma moeda corrente, que por ser armazenado em pequenas quantidades nas células precisa ser ressintetizado continuamente de acordo com seu ritmo de utilização. Diferentes vias metabólicas participam da ressíntese do ATP, onde algumas ocorrem no citossol da célula e outras dentro das mitocôndrias. As reações no citossol da célula ocorrem a partir do fracionamento anaeróbico do fosfato de creatina, glicose, glicerol e do esqueleto de carbono de alguns aminoácidos desaminados, enquanto as que ocorrem dentro das mitocôndrias como o ciclo do ácido cítrico, a  $\beta$ -oxidação e a cadeia transportadora de elétrons são reações aeróbicas (MAUGHAN, GLEESON & GREENHAFF, 2000).

### *2.3.1 Metabolismo Anaeróbico (Via Glicolítica)*

A glicólise é uma via de transformação de energia que ocorre no citossol da célula, fora das mitocôndrias. Essa reação corresponde a metabolização de uma molécula de glicose em duas de piruvato, com a formação de duas moléculas de ATP. Esse processo ocorre de maneira anaeróbia, ou seja, na ausência de oxigênio. Quando a oferta de oxigênio é proporcional a demanda de energia, o piruvato pode ser oxidado completamente nas mitocôndrias para CO<sub>2</sub>, gerando dessa forma muito mais ATP, essa condição é conhecida como respiração celular aeróbia. O piruvato também pode ser processado de forma anaeróbia, com a conseqüente formação de lactato (fermentação láctica) ou de etanol (fermentação alcoólica). A glicólise ocorre a partir de uma série de reações enzimáticas divididas em três estágios, onde o primeiro refere-se à transformação da glicose em frutose-1,6-bifosfato, o segundo refere-se à clivagem da frutose-1,6-bifosfato em dois fragmentos interconvertíveis de três carbonos e o terceiro e último estágio corresponde à formação de ATP a

partir da oxidação dos fragmentos de três carbonos a piruvato (BERG, TYMOCZKO & STRYER, 2004)

A primeira reação que ocorre no estágio 1 da glicólise é a transferência da fosforila do ATP para o carbono seis da glicose, que entra nas células através da difusão facilitada mediada por proteínas específicas de transporte, essa reação catalisada pela enzima hexocinase na maioria dos tecidos ou pela glicocinase nas células do parênquima hepático e células das ilhotas no pâncreas, da origem a glicose-6-fosfato. Essa etapa faz com que a glicose-6-fosfato fique aprisionada na célula, pois suas cargas negativas evitam sua possível difusão pela membrana, além de começar a desestabilizar a glicose, facilitando assim seu posterior metabolismo. A etapa seguinte envolve a isomerização da glicose 6-fosfato, ocorrendo dessa forma à produção de frutose-6-fosfato, reação catalisada pela enzima fosfoglicose-isomerase. Essa reação é facilmente revertida e não é um passo limitante ou regulado. A terceira reação corresponde a uma etapa irreversível, sendo o ponto mais importante de controle e limitante da velocidade da glicólise, onde ocorre a formação da frutose-1,6-bifosfato a partir da transferência da fosforila do ATP para o carbono um da frutose-6-fosfato, essa reação é catalisada pela enzima fosfofrutocinase-1. Essa enzima pode ser inibida alostericamente por níveis elevados de ATP e citrato, enquanto que a frutose-2,6-bifosfato é um potente ativador, que por sua vez é formada pela fosfofrutocinase-2 (CHAMPE, HARVEY & FERRIER, 2009).

A quarta reação da glicólise que ocorre no estágio 2 dar-se através da ação enzimática da aldolase, que tem por finalidade catalisar a clivagem da frutose-1,6-bifosfato em dois fragmentos de três carbonos, a diidroxiacetona-fosfato e gliceraldeído-3-fosfato. Essa reação não é regulada e pode ainda ser revertida. A diidroxiacetona-fosfato não pode dar continuidade a via glicolítica, ao contrário precisa ser convertida para gliceraldeído-3-fosfato, reação catalisada pela enzima triose fosfato isomerase, sendo essa reação rápida e reversível. Por mais que a reação possa ocorrer nas duas direções, ela se processa com mais freqüência no sentido da diidroxiacetona-fosfato para gliceraldeído-3-fosfato, devido à remoção desse produto pelas reações subseqüentes. Na próxima reação a oxidação do gliceraldeído-3-fosfato acarreta na formação de 1,3-bisfosfoglicerato pela enzima

gliceraldeído-3-fosfato-desidrogenase. Essa reação envolve duas etapas, onde a primeira corresponde a uma reação de oxidação do grupo aldeído a ácido carboxílico pela coenzima nicotinamida adenina dinucleotídio (NAD<sup>+</sup>), enquanto que na segunda etapa ocorre a junção do ácido carboxílico com o ortofosfato. O NAD<sup>+</sup> é uma coenzima necessária para que ocorra essa reação, estando presente nas células em quantidades limitadas, com isso a sua forma reduzida (NADH) precisa ser reoxidada para que possa continuar ocorrendo a glicólise. O NADH pode ser oxidado de duas formas, pelo piruvato com a consequente formação de lactato, quando não há participação do oxigênio (condições anaeróbias), ou pela cadeia transportadora de elétrons, quando há participação do oxigênio (condições aeróbias) (VOET & PRATT, 2000).

O estágio final da glicólise corresponde a produção de ATP a partir do substrato 1,3-bisfosfoglicerato, metabólito intermediário da glicólise. A fosforila presente no carbono 1 desse substrato é transferida para o ADP, sendo o ATP e o 3-fosfoglicerato os produtos dessa reação, que por sua vez é catalisada pela fosfoglicerato cinase. Essa maneira como ocorre a síntese do ATP é conhecida como fosforilação ao nível do substrato. Essa etapa repõe as duas moléculas de ATP consumidas no início da via glicolítica, pois para cada molécula de glicose são formadas duas de 1,3-bisfosfoglicerato. O produto 3-fosfoglicerato que foi formado sofre ação da enzima fosfoglicerato-mutase, reação livremente reversível, que tem por finalidade catalisar o deslocamento do grupo fosfato do carbono 3 para o carbono 2, com a subsequente formação de 2-fosfoglicerato. A nona reação da glicólise corresponde a uma desidratação do 2-fosfoglicerato, resultando na formação do fosfoenolpiruvato, reação reversível catalisada pela enzima enolase. A próxima reação é a terceira irreversível da glicólise, e também responsável pela fosforilação no nível do substrato. Essa reação catalisada pela enzima piruvato-cinase, transfere o grupo fosforila do fosfoenolpiruvato para o ADP, formando-se assim outras duas moléculas de ATP e piruvato, pois para cada molécula de glicose são formadas duas de fosfoenolpiruvato (CAMPBELL, 2000).

### *2.3.2 Formação e Remoção do Lactato*

O piruvato formado pode ser processado aerobicamente ou anaerobicamente, dependendo da relação entre a demanda energética e o suprimento de oxigênio, além do seu ritmo de utilização. Quando a demanda energética ultrapassa o suprimento de oxigênio e o seu ritmo de utilização, a forma reduzida do NAD<sup>+</sup> (NADH + H<sup>+</sup>) não consegue ser oxidada pela cadeia respiratória (aerobiose). Para que continue ocorrendo a liberação de energia através da via glicolítica o NADH + H<sup>+</sup> sofre oxidação, enquanto que o piruvato sofre redução por aceitar pares de hidrogênios não oxidados. Essa reação catalisada pela enzima lactato-desidrogenase é a responsável pela formação do lactato, que por sua vez pode ser revertida. Essa via na qual tem o lactato como produto final, recebe a denominação de glicólise anaeróbica, por ocorrer sem a participação do oxigênio. O início do metabolismo energético anaeróbico está representado não apenas pela produção de lactato, mas pelo acúmulo que se dá em exercícios de alta intensidade (MCARDLE & KATCH, 2003). Mesmo em situações de repouso o lactato está constantemente sendo produzido principalmente no cristalino e na córnea do olho, na medula renal, nos testículos, nos leucócitos e eritrócitos, pois apresentam uma pobre vascularização ou privação de mitocôndrias (CHAMPE, HARVEY & FERRIER, 2009).

O lactato formado pode ser removido de várias formas, onde passa do citossol celular para o líquido intersticial através da difusão facilitada mediada por transportadores de moléculas de lactato, que pertencem à família dos transportadores de monocarboxilatos ligados a prótons (MCTs). Esses transportadores são bidirecionais, sendo capazes de transportar lactato para fora ou para dentro das células musculares, dependendo do gradiente de concentração. Com isso as fibras musculares do tipo I, com grande capacidade oxidativa, o miocárdio e o córtex renal podem participar em parte da remoção do lactato, a partir de sua oxidação a piruvato. Então o piruvato é oxidado e libera 92% da energia remanescente, com a formação de CO<sub>2</sub> e H<sub>2</sub>O. O lactato também pode ser utilizado como substrato para as sínteses de glicose e glicogênio no fígado. Estudos recentes demonstram que uma série de enzimas chaves responsáveis pela ocorrência da

gliconeogênese, também estão presentes nas quantidades requeridas no músculo (ASTRAND *et al.* 2006).

As reações de gliconeogênese que ocorrem a partir do ciclo de Cori, não servem apenas para remover o lactato no fígado, mas também para restaurar as reservas de glicogênio depletadas durante exercícios árduos. Para que o lactato possa ser convertido em glicose no fígado é necessário o desvio de reações irreversíveis da via glicolítica, onde as enzimas hexocinase, fosfofrutocinase e piruvato cinase, são substituídas pelas enzimas glicose-6-fosfatase, FDPase e piruvato carboxilase com a fosfoenolpiruvato fosfoquinase, respectivamente. A gliconeogênese é um processo que demanda energia, por isso só ocorre quando existe ATP disponível para a célula. Hoje se discute o quão longe esse processo prossegue no músculo esquelético. Onde tudo indica que se prossegue até um grau significativo, quando a concentração de lactato é elevada e o conteúdo de glicogênio é baixo, como ocorre ao fim de um exercício físico extenuante (MAUGHAN, GLEESON & GREENHAFF, 2000).

### *2.3.3 Influência do Exercício Físico nas Concentrações Plasmáticas de Testosterona*

As respostas agudas que o treinamento de força exerce na concentração de testosterona ainda são controversos. Onde alguns estudos relatam uma diminuição na concentração de testosterona (BAMMAN *et al.* 2001; BOSCO *et al.* 2000, *apud* GENTIL, 2005), outros relatam um aumento (GOTSHALK *et al.* 1997; VOLEK *et al.* 1997; KRAEMER *et al.* 1999; TREMBLAY *et al.* 2004, *apud* GENTIL, 2005) e alguns não encontraram diferenças significativas entre os níveis de testosterona pré e pós-exercício (BOSCO *et al.* 2000; SMILIOS *et al.* 2003, *apud* GENTIL, 2005). Existem estudos que afirmam haver um aumento na concentração de testosterona a partir de treinos físicos de alta intensidade, incluindo os metabólicos, pois o acúmulo de lactato pode estimular a secreção de testosterona (LIN *et al.* 2001, *apud* GENTIL, 2005). Em termos crônicos, não se apresentam alterações significativas nas concentrações de testosterona em função do treino de força (KRAEMER *et al.* 1995; KRAEMER *et al.* 1999; TREMBLAY *et al.* 2004; POTTEIGER *et al.* 1995; MACCALL

*et al.* 1999; OSTEBERG *et al.* 1997; REABURN *et al.* 1997, *apud* GENTIL, 2005), apesar de (STARON *et al.* 1994, *apud* GENTIL, 2005) relatarem o contrário.

Estudos apresentam uma diminuição da concentração de testosterona nas primeiras horas após o exercício, seguida por uma tendência à maior produção, havendo também um aumento na produção de androstenediona (VIRU & VIRU, 1999, *apud* BACURAU, NAVARRO & UCHIDA, 2005).

## 3 METODOLOGIA

### 3.1 Animais

Foram utilizados 18 ratos machos, da linhagem Wistar, pesando entre 300 à 350g. Os animais, provenientes do Biotério da Faculdade Integrada do Ceará (FIC) – Fortaleza, foram mantidos em gaiolas coletivas (cinco ratos por gaiola), à temperatura ambiente de  $25 \pm 1$  °C e fotoperíodo de 12 horas de claro e 12 horas de escuro, com acesso a ração balanceada padrão Purina e água *ad libitum* obedecendo aos padrões éticos de manipulação e utilização de ratos experimentais estabelecidos pelo comitê de ética da Faculdade Integrada do Ceará (FIC).

### 3.2 Protocolos experimentais

Os animais foram distribuídos aleatoriamente em três grupos, de acordo com os seguintes protocolos:

Protocolo experimental 01 - O primeiro grupo de ratos (n = 6) realizou exercício exaustivo em um tanque com água (natação), a fim de promover uma elevação na lactacidemia.

Protocolo experimental 02 - O segundo grupo de ratos (n = 6) não participou de nenhum exercício físico, sendo administrado ácido láctico (exógeno). Esse procedimento foi realizado a fim de promover uma elevação na lactacidemia, sem qualquer estímulo adicional ocasionado pela realização de exercício exaustivo.

Controle - O terceiro grupo de ratos (n = 6) não participou de nenhum exercício físico, e não foi submetido à aplicação de ácido láctico.

### **3.3 Adaptação ao exercício de natação**

Todos os animais do protocolo experimental 01 foram submetidos a um período de adaptação ao exercício de natação (10 minutos diários sem carga, durante cinco dias) em um tanque de 120 cm de profundidade e 80 cm de diâmetro, com temperatura da água  $31 \pm 1^{\circ}\text{C}$ .

### **3.4 Exercício exaustivo por meio da natação**

Depois de realizar a adaptação ao exercício, cada animal foi submetido a um teste para descobrir a carga máxima tolerada para realização de 1 a 2 minutos de esforço físico. Foram colocadas células de carga, correspondendo a 2%, 4%, 6%, 8% e 10% da massa corporal total do animal até sua exaustão, atingindo-se a carga máxima tolerada. A exaustão foi determinada a partir do momento que o animal não conseguia nadar até a superfície da água, mantendo-se submerso por aproximadamente oito segundos (OSORIO *et al.* 2003, *apud* SOUZA *et al.* 2006). Após descoberto a sobrecarga ideal para o volume de exercício pré-determinado, os animais foram submetidos à realização do exercício exaustivo propriamente dito.

O exercício exaustivo foi realizado a uma sobrecarga, acoplada a cauda do animal, equivalente a 10% da massa corporal total do animal. Os animais nadaram até alcançar a exaustão, citada anteriormente, em um período de 1 a 2 minutos. Em seguida os animais foram retirados da água por um período de 40 segundos, a fim de haver uma recuperação parcial, então após o intervalo, os animais foram colocados novamente na água, onde nadaram até alcançar a exaustão, independente do tempo. Os animais realizaram um total de 3 séries, sendo efetuada a coleta de sangue apenas ao final da terceira série, como será descrito adiante. Este protocolo de exercício foi realizado individualmente por cada animal.

### **3.5 Administração de ácido láctico**

De acordo com MARQUES *et al.* (2002), a volemia de um rato corresponde a 64 ml/kg de peso. Tomando como base, o ácido láctico foi administrado em concentrações equivalentes a 4,5 mmol/L de sangue, por meio da via endovenosa (veia caudal). Após a administração do ácido láctico foi feito a análise do lactato sanguíneo, descrito no item seguinte.

### **3.6 Análise do lactato sanguíneo**

As amostras de sangue (~25ul) foram coletadas através de punção da extremidade caudal de cada rato e colocadas em tiras-testes para a quantificação de lactato (BM-Lactate®). Em seguida realizou-se a leitura da concentração de lactato por meio de um analisador portátil (Accutrend® Lactate). Este procedimento foi realizado em todos os três grupos após a realização do exercício exaustivo, após a administração de ácido láctico (exógeno) e em situações basais, respectivamente de acordo com a seqüência dos grupos estudados.

### **3.7 Análise da testosterona livre**

As amostras de sangue (3,5ml) foram coletadas através do plexo retro-ocular, com a utilização de um capilar de vidro. Em seguida as amostras foram encaminhadas para o laboratório de análises clínicas Adolfo Lutz, em Fortaleza. No laboratório as amostras foram centrifugadas a 3200 rpm por 10 minutos, obtendo-se assim amostras de soro, que foram utilizadas para analisar as concentrações de testosterona livre. Para a realização dessa análise foi utilizado o método de radioimunoensaio. Este procedimento foi realizado em todos os três grupos após a quantificação da lactacidemia, citada no item anterior. Para evitar qualquer interferência do ritmo circadiano sobre as concentrações de testosterona livre, todas as coletas foram realizadas em um mesmo horário pela manhã.

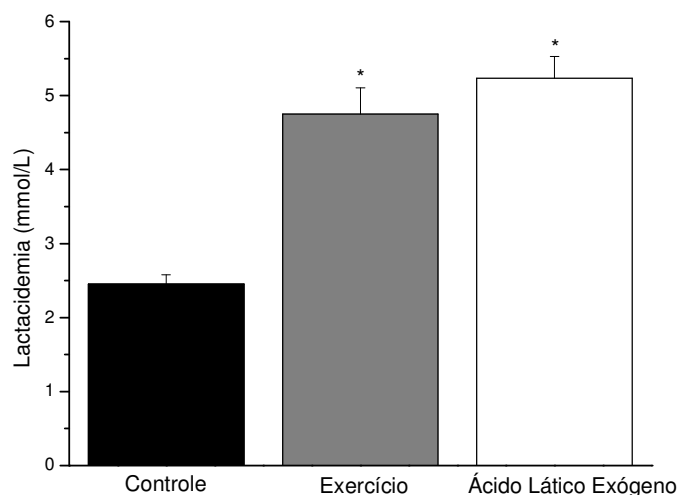
### **3.8 Análise estatística**

Os dados destes experimentos foram normalizados como percentual médio das contrações iniciais  $\pm$  erro padrão da média. Eram considerados estatisticamente diferentes os resultados que apresentassem probabilidade de ocorrência da hipótese de nulidade menor que 5% ( $p < 0.05$ ). Para comparação das médias foi feita a Análise de variância (ANOVA) e posteriormente aplicados os testes paramétricos e não paramétricos.

## 4 RESULTADOS

### 4.1 Concentração média de lactato sanguíneo entre os grupos

A figura 1 representa uma média da concentração de lactato sanguíneo (lactacidemia) apresentado pelos três grupos de animais estudados. Onde pode ser observada uma concentração de lactato significativamente superior apresentada pelos dois grupos, exercitado (4,75 mmol/L) e o que recebeu ácido láctico exógeno (5,23 mmol/L), em relação ao grupo controle (2,45 mmol/L). Já entre esse dois grupos, exercitado e o que recebeu ácido láctico exógeno, não houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ).

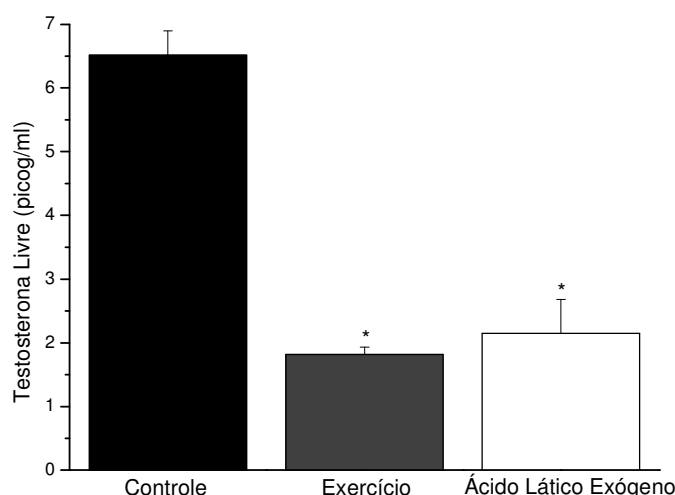


**Figura 1** – Resultados médios da lactacidemia (mmol/L) apresentados pelos grupos estudados.

\* diferença não significativa,  $p < 0,05$

## 4.2 Concentração média de Testosterona livre entre os grupos

A figura 2 representa uma média da concentração de testosterona livre apresentada pelos três grupos de animais estudados. Onde essas concentrações estão significativamente diminuídas nos dois grupos, exercitado (1,81 picog/mL) e o que recebeu ácido láctico exógeno (2,15 picog/mL), em relação ao grupo controle (6,51 picog/mL). Como pode ser observado, não houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre esses dois grupos (exercitado e o que recebeu ácido láctico exógeno).



**Figura 2** – Resultados médios da concentração de testosterona livre (picog/mL) apresentados pelos grupos estudados.

\* diferença não significativa,  $p < 0,05$ .

Verificou-se com esses resultados que os grupos que foram submetidos a uma elevação da lactacidemia apresentaram uma diminuição significativa na concentração da testosterona livre, quando comparados com o grupo controle. Podendo observar uma possível relação da lactacidemia com a concentração plasmática de testosterona livre. Não havendo diferença significativa entre os grupos submetidos à elevação da lactacidemia (exercitado e o que recebeu ácido láctico exógeno).

## 5 DISCUSSÃO

A síntese e a secreção da testosterona como resposta aguda a uma sessão de exercícios resistidos ainda são controversos. Havendo estudos que relatam queda (BAMMAN *et al.* 2001; BOSCO *et al.* 2000, *apud* GENTIL, 2005), aumento (GOTSHALK *et al.* 1997; VOLEK *et al.* 1997; KRAEMER *et al.* 1999; TREMBLAY *et al.* 2004, *apud* GENTIL, 2005) e alguns que não encontraram diferenças significativas entre os níveis de testosterona pré e pós-treino (BOSCO *et al.* 2000; SMILIOS *et al.* 2003, *apud* GENTIL, 2005).

Baseado nos estudos de (VIRU & VIRU, 1999, *apud* BACURAU, NAVARRO & UCHIDA, 2005), a concentração de testosterona diminui nas primeiras horas do período pós-exercício seguida por uma tendência à maior produção.

No presente estudo, realizado com animais, observou-se uma diminuição na concentração de testosterona livre nos grupos que foram submetidos a uma elevação da lactacidemia endógena e exógena, em relação ao grupo controle, não havendo diferença significativa entre os grupos submetidos a uma elevação da lactacidemia. Sugerindo a partir desses resultados uma possível participação do lactato na inibição da secreção de testosterona em ratos, podendo ser de forma direta ou indireta. Parte do efeito inibitório exercido no grupo que foi submetido à realização de exercício físico exaustivo, pode ser explicado de acordo com McArdle & Katch (2003), pelo aumento nas concentrações plasmáticas de prolactina,  $\beta$ -endorfina e hormônio liberador de corticotrofina (CRH), induzidos pela realização de exercícios de alta intensidade.

O CRH pode ter sua síntese e secreção aumentada em decorrência a diversos estímulos estressores, incluindo a hipóxia. A  $\beta$ -endorfina acompanha a secreção do CRH através do processamento da pró-opiomelanocortina (POMC), podendo-se afirmar que esses dois mediadores estão inter-relacionados com a inibição sinérgica da secreção de testosterona, a partir de seus efeitos inibitórios sobre os neurônios GnRHérgicos, que secretam o hormônio liberador de gonadotrofinas (AIRES, 2008). Então a hipóxia induzida

pelo protocolo de exercício que foi aplicado a um grupo de animais, no presente estudo, pode estar relacionada com as baixas concentrações de testosterona plasmática apresentadas ao final do protocolo.

Estudos de (SCHWARZ & KINDERMANN, 1990, *apud* CUNHA, RIBEIRO & OLIVEIRA, 2008), apontam o exercício anaeróbio de alta intensidade e com duração de 30 segundos, como um potente estímulo para secreção de  $\beta$ -endorfina, apresentando um pico máximo nos níveis sanguíneos de aproximadamente duas a quatro vezes maiores do que em repouso. Em publicação posterior, (SCHWARZ & KINDERMANN, 1992, *apud* CUNHA, RIBEIRO & OLIVEIRA, 2008), apresentam a sugestão de uma extensa correlação com a lactacidemia, havendo um aumento significativo na concentração plasmática de  $\beta$ -endorfina após ter excedido o limiar anaeróbio.

Com base nos dados apresentados, pode-se especular uma possível inibição da secreção do hormônio liberador de gonadotrofinas, mediada pela  $\beta$ -endorfina, que por sua vez seria responsável por uma diminuição na concentração plasmática de testosterona livre apresentada nos dois grupos de animais submetidos, neste estudo, a elevações da lactacidemia, em relação ao terceiro grupo (controle).

Outra possível hipótese pode sugerir a participação da acidose metabólica como um dos estímulos responsáveis pela diminuição da concentração plasmática de testosterona livre. Estudo publicado por Taylor *et al.* (1994), avaliou o efeito da acidose metabólica sobre a secreção de  $\beta$ -endorfina durante o exercício, concluindo que há uma participação da acidose metabólica no aumento da secreção de  $\beta$ -endorfina. Então baseado nessas informações, as baixas concentrações de testosterona podem, de certa forma, estar relacionadas com a hiperlactacidemia, acidose ou ambas, a partir de seus efeitos na secreção de  $\beta$ -endorfina.

O estudo publicado por Coltinho, Brinco & Diniz (2007), tinha o propósito de mensurar e avaliar as variações das concentrações hormonais de testosterona e cortisol durante treino de força. Os autores selecionaram voluntários que foram submetidos a um protocolo de exercício, onde realizavam duas séries de dez repetições a 70% de 1 RM, com intervalo entre

as séries de dois minutos, utilizando-se de quatro exercícios. As coletas de sangue eram realizadas antes e após a realização do protocolo. Ao final do estudo os autores observaram uma diminuição na concentração de testosterona após a realização do protocolo de exercício físico, o que parece corroborar com os resultados apresentados no presente estudo.

Vale ressaltar a necessidade de novos protocolos experimentais, para que o mecanismo de ação entre os metabólitos e a testosterona possa ser totalmente elucidado, e então poder-se utilizar desses conhecimentos para fins de prescrição de exercício físico, bem como outras finalidades específicas.

## 6 CONCLUSÃO

No estudo realizado, percebeu-se uma tendência a queda nas concentrações plasmática da testosterona livre, apresentada pelos dois grupos de animais submetidos a elevações na lactacidemia, em relação ao grupo controle.

Assim, sugeriu-se a hipótese do possível efeito inibidor do lactato sobre a secreção de testosterona em ratos, embora não se saiba de fato se o lactato exerceria seus efeitos de forma direta ou indireta.

Como o ácido láctico está envolvido com a acidose metabólica, pode-se sugerir uma possível participação da acidose na inibição da secreção de testosterona em ratos.

Acredita-se que provavelmente os resultados podem ter relação com o lactato, acidose ou ambos.

Embora os resultados apontem certa relação da hiperlactacidemia com as baixas concentrações plasmáticas de testosterona livre, os mecanismos propostos para esses achados ainda não foram totalmente elucidados. Havendo a necessidade da realização de novas pesquisas referente a esse tema.

## REFERÊNCIAS

- AIRES, M. M. **Fisiologia**. 2º ed. Rio de Janeiro, RJ: Guanabara Koogan, 1999.
- AIRES, M. M. **Fisiologia**. 3º ed. Rio de Janeiro, RJ: Guanabara Koogan, 2008.
- ÅSTRAND, P. O.; RODAHL, K.; DAHL, H. A.; STRØMME, S. B. **Tratado de Fisiologia do Trabalho: Bases Fisiológicas do Exercício**. 4º ed. Porto Alegre, RS: Artmed, 2006.
- BACURAU, R. F.; NAVARRO, F.; UCHIDA, M. C. **Hipertrofia – Hiperplasia: Fisiologia, Nutrição e Treinamento do Crescimento Muscular**. 2º ed. São Paulo, SP: Phorte, 2005.
- BERG, J. M.; TYMOCZKO, J. L.; STRYER, L. **Bioquímica**. 5º ed. Rio de Janeiro, RJ: Guanabara Koogan, 2004.
- BERNE, R. M. & LEVY, M. N. **Fisiologia**. 4º ed. Rio de Janeiro, RJ: Guanabara Koogan, 2000.
- CAMPBELL, M. K. **Bioquímica**. 3º ed. Porto Alegre, RS: Artmed, 2000.
- CHAMPE, P. C.; HARVEY, R. A.; FERRIER, D. R. **Bioquímica Ilustrada**. 4º ed. Porto Alegre, RS: Artmed, 2009.
- CINGOLANI, H. E. & HOUSSAY, A. B. **Fisiologia Humana**. 7º ed. Porto Alegre, RS: Artmed, 2004.
- COLTINHO, H.; BRINCO, R. A.; DINIZ, S. H. Respostas Hormonais da Testosterona e Cortisol Depois de Determinado Protocolo de Hipertrofia Muscular. **Revista Brasileira de Prescrição Fisiologia do Exercício**. 2007; v. 1, n. 3, p. 72 – 77.
- COSTANZO, L. S. **Fisiologia**. 3º ed. Rio de Janeiro, RJ: Elsevier, 2007.
- CUNHA, G. S.; RIBEIRO, J. L.; OLIVEIRA, A. R. Níveis de Beta-endorfina em Resposta ao Exercício e no Sobretreinamento. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**. 2008; v. 52, n. 4, p. 589 – 598.
- FOX, S. I. **Fisiologia Humana**. 7º ed. Barueri, SP: Manole, 2007.
- GANONG, W. F. **Fisiologia Médica**. 22º ed. Rio de Janeiro, RJ: McGraw-Hill, 2006.
- GENTIL, P. **Bases Científicas do Treinamento de Hipertrofia**. 1º ed. Rio de Janeiro, RJ: Sprint, 2005.

GUYTON, A. C. & HALL, J. E. **Tratado de Fisiologia Médica**. 11<sup>o</sup> ed. Rio de Janeiro, RJ: Elsevier, 2006.

MARQUES, R. G.; PETROIANU, A.; OLIVEIRA, M. B. N.; BERNARDO FILHO, M. Importância da Preservação de Tecido Esplênico Para a Fagocitose Bacteriana. **Acta Cirúrgica Brasileira**. 2002; v. 17, n. 6, p. 388 – 393.

MAUGHAN, R.; GLEESON, M.; GREENHAFF, P. L. **Bioquímica do Exercício e Treinamento**. 1<sup>o</sup> ed. Barueri, SP: Manole, 2000.

MCARDLE, W. D.; KATCH, F. I.; KATCH, V. L. **Fisiologia do Exercício: Energia, Nutrição e Desempenho Humano**. 5<sup>o</sup> ed. Rio de Janeiro, RJ: Guanabara Koogan, 2003.

MOLINA, P. E. **Fisiologia Endócrina**. 2<sup>o</sup> ed. São Paulo, SP: McGraw-Hill, 2007.

POIAN, A. T. & CARVALHO-ALVES, P. C. **Hormônios e Metabolismo: Integração e Correlações Clínicas**. 1<sup>o</sup> ed. São Paulo, SP: Atheneu, 2006.

POWERS, S. K. & HOWLEY, E. T. **Fisiologia do Exercício: Teoria e Aplicação ao Condicionamento e ao Desempenho**. 5<sup>o</sup> ed. Barueri, SP: Manole, 2005.

RAW, I. & LEE HO, P. **Integração e seus Sinais**. 1<sup>o</sup> ed. São Paulo, SP: UNESP, 2000.

SOUZA, R. A.; SANTOS, R. M.; OSÓRIO, R. A. L.; COGO, J. C.; JÚNIOR, C. G. P.; MARTINS, R. A. B. L.; RIBEIRO, W. Influência da Suplementação Aguda e Crônica de Creatina Sobre as Concentrações Sanguíneas de Glicose e Lactato de Ratos Wistar. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**. 2006; v. 12, n. 6, p. 361 -365.

TAYLOR, D. V.; BOYAJIAN, J. G.; JAMES, N.; WOODS, D.; CHICZ-DEMET, A.; WILSON, A. F.; SANDMAN, C. A. Acidosis Stimulates Beta-endorphin Release During Exercise. **Journal of Applied Physiology**. 1994; v. 77, i. 4, p. 1913 – 1918.

TORTORA, G. J. & GRABOWSKI, S. R. **Princípios de Anatomia e Fisiologia**. 9<sup>o</sup> ed. Rio de Janeiro, RJ: Guanabara Koogan, 2002.

VOET, D.; VOET, J. G.; PRATT, C. W. **Fundamentos de Bioquímica**. 1<sup>o</sup> ed. Porto Alegre, RS: Artmed, 2000.