

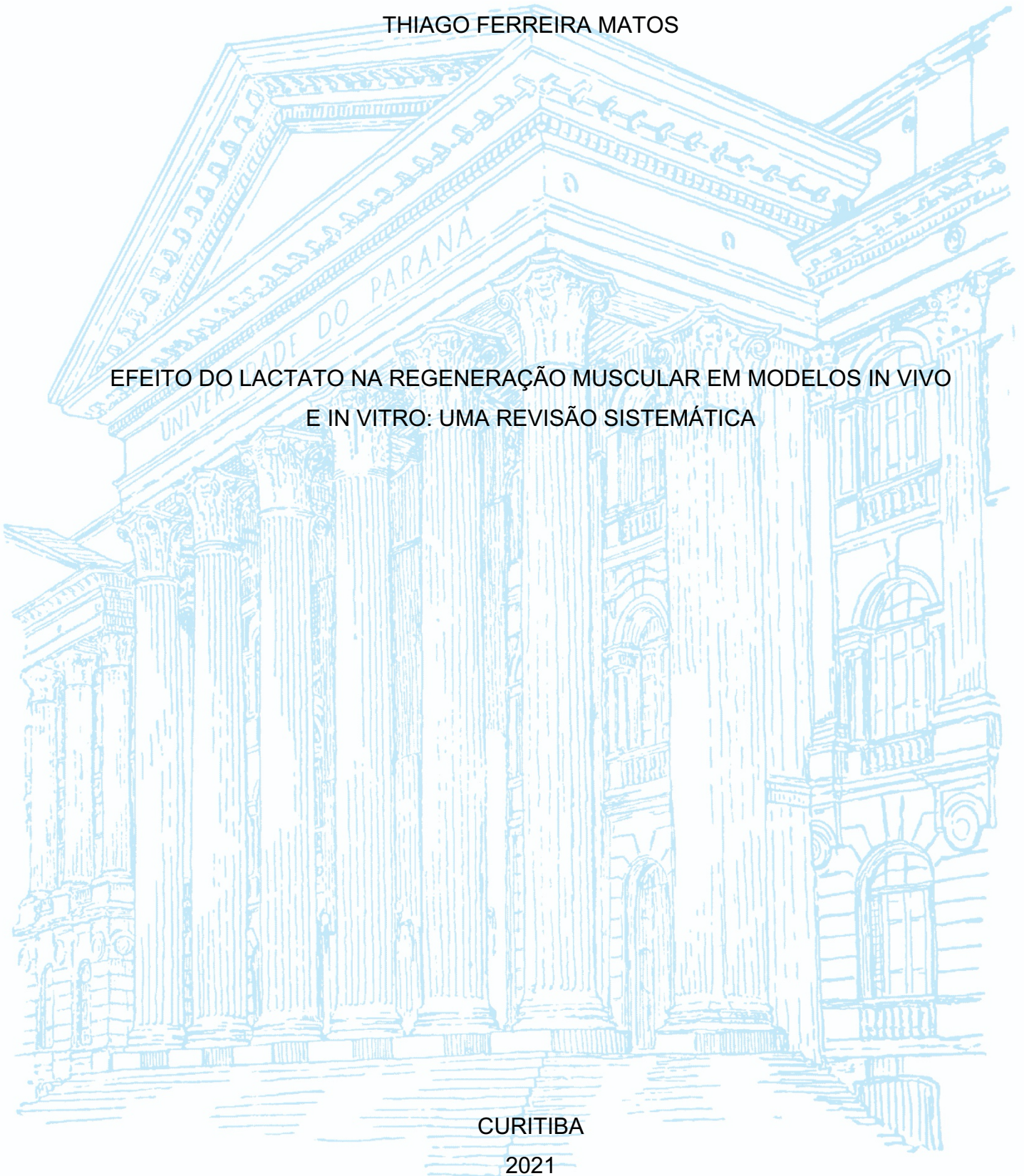
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

THIAGO FERREIRA MATOS

EFEITO DO LACTATO NA REGENERAÇÃO MUSCULAR EM MODELOS IN VIVO
E IN VITRO: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA

CURITIBA

2021



THIAGO FERREIRA MATOS

EFEITO DO LACTATO NA REGENERAÇÃO MUSCULAR EM MODELOS IN VIVO
E IN VITRO: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA

TCC apresentado ao curso de graduação em Educação Física, Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Educação Física.

Orientadoras: Prof^a. Dr^a. Neiva Leite e
Prof^a Ms. Maria Eduarda Casagrande Carli.

CURITIBA

2021

TERMO DE APROVAÇÃO

THIAGO FERREIRA MATOS

EFEITO DO LACTATO NA REGENERAÇÃO MUSCULAR EM MODELOS IN VIVO E IN VITRO: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Graduação em Educação Física, Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Educação Física.



Prof(a). Dr(a). Neiva Leite

Orientadora - Departamento de Educação Física, UFPR



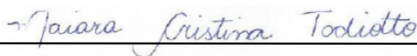
Profa. Maria Eduarda Casagrande Carli

Orientadora – Mestranda do PPGEDF, Departamento de Educação Física, UFPR



Prof. Msc. Francisco José de Menezes-Junior

Banca - Doutorando do PPGEDF, Departamento de Educação Física, UFPR



Profa. Msc. Maiara Cristina Tadiotto

Banca - Doutoranda do PPGEDF, Departamento de Educação Física, UFPR



Profa. Msc. Patricia Ribeiro Paes Corazza

Banca - Doutoranda do PPGEDF, Departamento de Educação Física, UFPR

Curitiba, 23 de março de 2021.

Dedico esse trabalho aos meus pais Juracy e Wolney, a minha esposa Aline e aos meus cachorros Mel, Piti e Hank.

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais Juracy e Wolney por tudo que fizeram e fazem por mim, por terem sempre me incentivado a estudar, por terem investido dinheiro e tempo no meu ensino ao longo da minha vida.

Agradeço a minha esposa Aline por estar sempre do meu lado e sempre me incentivando e acreditando até mais do que eu. Obrigado por aguentar meus surtos durante a produção deste trabalho. Te amo!

Agradeço aos meus psicólogos Mel, Piti e Hank, que foram a minha válvula de escape durante toda a faculdade.

Agradeço muito a Prof^a. Dr^a. Neiva Leite por ter feito uma revisão de fisiologia básica antes de começar a sua matéria, ver aquele quadro negro todo cheio de anotações e esquemas fizeram meu olho brilhar, e por acaso nesta mesma aula ficamos alguns minutos a mais conversando sobre lactato, que então veio a ser o cerne do trabalho. Muito obrigado professora.

Agradeço demais a Prof^a Msc. Maria Eduarda Casagrande Carli que em seu primeiro ano de mestrado já pegou uma bucha como este trabalho, digo isso não porque foi difícil em si, mas o trabalho era muito diferente de tudo que ela já havia feito e mesmo assim ela sempre correu atrás, sempre teve uma paciência absurda para me explicar as minhas dúvidas mais bobas, sempre esteve presente e disponível quando necessitei de algum auxílio, sempre acreditou e me motivou (mesmo nos meus piores meses). Duda, eu já te falei isso, mas acho que vale deixar registrado, por favor se torne professora do DEF, você é incrível ensinando / pesquisando. O mundo precisa de mais professoras como você e a professora Neiva.

Por fim deixo aqui meu agradecimento aos meu "netos", amigos com praticamente metade da minha idade e que sempre ajudaram no percurso do curso. Valeu 98, Oneda, Ale, Dug, Hidro, Bola, Indiano, Markinhos, Pedrão, Fina, Klodo, Dudu, Unger (faz o C), Pedrinho. Vocês fizeram o vô rir muito durante a faculdade senhores! Valeu!

"If you stop looking for a short cut and find your discipline and your will, then
you will find your freedom."

Jocko Willink

RESUMO

O mecanismo da regeneração muscular é de caráter complexo, com inúmeras variáveis, o qual ainda possui muitos pontos para serem esclarecidos, sendo que um deles é a participação do lactato neste processo. O lactato é uma substância que ao longo dos anos foi responsabilizado por inúmeros efeitos, principalmente ligado à fadiga muscular, sendo recentemente destacado em processos sistêmicos e na regeneração muscular. O objetivo deste estudo foi realizar uma revisão sistemática sobre o efeito do lactato na recuperação muscular em modelos *in-vivo* e *in vitro*. Para este estudo foram utilizadas cinco bases de dados eletrônicas, consultadas no período de julho à agosto de 2020, utilizando-se as palavras de busca em inglês e português: lactato, ácido láctico, regeneração muscular, proteína MyoD e Miogenina. Com a aplicação dos critérios de inclusão e exclusão, oito artigos foram selecionados, dos quais foram encontrados três estudos exclusivamente *in-vitro*, um exclusivamente em modelos animais e quatro estudos com modelos *in-vitro* e modelos animais. Nestes oito estudos selecionados foi aplicado o questionário RoB (*Risk of Bias*) para avaliar a qualidade metodológica dos estudos, o qual todos obtiveram a classificação “*Some Concerns*” ao final do questionário. Ambos os tipos de estudos (*in-vitro* e *in-vivo*) apresentaram resultados que podem apontar o mecanismo pelo qual o lactato age na proliferação e diferenciação de mioblastos, seja pela ação de fatores regulatórios miogênicos (MRFs), ou pelas ações no metabolismo destas células. Ainda que de forma inconclusiva, os resultados compilados nesta revisão apontam para a tendência do lactato estar relacionado ao aumento de MRFs (principalmente MyoD) no músculo e esses MRFs são responsáveis por aumentar a ativação de células satélites musculares e assim estimular a regeneração muscular. Portanto, a relação do lactato com a regeneração muscular ainda necessita de mais estudos para melhor compreensão, de forma a definir melhor o processo fisiológico pelo qual o lactato age na regeneração muscular.

Palavras-chave: Lactato 1. Ácido Láctico 2. Regeneração Muscular 3. MRF 4. MyoD 5. Miogenina 6.

ABSTRACT

The mechanism of muscle regeneration is complex, with numerous variables, which still has many points to be clarified, one of which is the participation of lactate in this process. Lactate is a substance that over the years has been responsible for numerous effects, mainly linked to muscle fatigue, but that, recently, has been pointed as responsible in systemic processes and muscle regeneration. The aim of this study was to conduct a systematic review of the effect of lactate on muscle recovery in in-vivo and in vitro models. For this study, five electronic databases were consulted in the period of July to August 2020, using the keywords in English and Portuguese, lactate, lactic acid, muscle regeneration, MyoD protein and Myogenin. With the application of the inclusion and exclusion criteria, eight articles were selected, of which three studies were found exclusively in-vitro, one exclusively in animal models and four studies with in-vitro models and animal models. In these eight selected studies, the RoB (Risk of Bias) questionnaire was applied to assess the methodological quality of the studies, where all studies obtained the "Some Concerns" classification at the end of the questionnaire. Both types of studies (in-vitro and in-vivo) present results that may point to the mechanism by which lactate acts in the proliferation and differentiation of myoblasts, either by the action of myogenic regulatory factors (MRFs), or by the actions on their metabolism cells. Although inconclusively, the results compiled in this review point to the tendency of lactate to be related to the increase of MRFs (mainly MyoD) in muscle and these MRFs are responsible for increasing the activation of muscle satellite cells and thus stimulating muscle regeneration. Therefore, the relationship between lactate and muscle regeneration still needs further studies for better understanding, in order to better define the physiological process by which lactate acts in muscle regeneration.

Keywords: Lactate 1. Lactic Acid 2. Muscle Regeneration 3. MRF 4. MyoD 5. Myogenin 6.

LISTA DE FIGURAS E GRÁFICOS

FIGURA 1: REGENERAÇÃO DE NAD ⁺ E LACTATO	17
FIGURA 2: METABOLISMO DO LACTATO.....	22
FIGURA 3: FLUXOGRAMA COM AS ETAPAS DA SELEÇÃO DOS ESTUDOS	33
GRÁFICO 1: QUALIDADE DOS ESTUDOS SELECIONADOS.....	35
GRÁFICO 2: RELAÇÃO DIAS DE EXPOSIÇÃO E MRFS	40
GRÁFICO 3: RELAÇÃO CONCENTRAÇÃO DE LACTATO E MRFS	40

LISTA DE TABELAS

TABELA 1: O HISTÓRICO DO LACTATO / ÁCIDO LÁTICO	20
TABELA 2: CARACTERIZAÇÃO DOS ESTUDOS SELECIONADO	36
TABELA 3: LACTATO E MRFs	39

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS OU SÍMBOLOS

MF	- Manniflavona
AA	- Ácido Ascórbico
MY	- Myricetin
Nrf2	- fator nuclear eritróide 2
LDH	- Lactato Desidrogenase
MyHC	- Cadeia Pesada de Miosina
LA	- Lactato
CA	- Cafeína
LC	- Lactato-Cafeína
Fst	- Folistatina
Mstn	- Miostatina
©	- copyright
@	- arroba
®	- marca registrada
Σ	- somatório de números
Π	- produtório de números

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
1.1 OBJETIVO	15
1.2 HIPÓTESE.....	15
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	16
2.1 A MOLÉCULA DE LACTATO	16
2.2 LACTATO – HISTÓRIA E FUNÇÃO.....	18
2.2.1 Atual Função do Lactato na Fisiologia do Metabolismo Humano.....	21
2.3 LACTATO – O NOVO PARADIGMA	22
2.4 LACTATO E A REGENERAÇÃO MUSCULAR	24
2.4.1 Estrutura Muscular.....	24
2.4.2 Regeneração Muscular.....	26
2.4.3 Lactato e Regeneração Muscular.....	27
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	29
3.1 TIPO DO ESTUDO	29
3.2 DESCRITORES PARA A SELEÇÃO DOS ESTUDOS	29
3.3 CRITÉRIOS DE ELEGIBILIDADE	29
3.4 BASES DE DADOS E ESTRATÉGIA DA BUSCA	30
3.5 EXTRAÇÃO E TRATAMENTO DOS DADOS	30
3.6 PONTUAÇÃO DA QUALIDADE METODOLÓGICA.....	30
4 RESULTADOS	32
4.1 AVALIAÇÃO DA QUALIDADE METODOLÓGICA	34
4.2 CARACTERIZAÇÃO DOS ESTUDOS	35
5 DISCUSSÃO	41
6 CONCLUSÃO.....	46
REFERÊNCIAS	47

1 INTRODUÇÃO

O lactato é um composto químico proveniente do metabolismo dos carboidratos, cujas funções no corpo humano têm sido motivo de debate entre fisiologistas desde seu aparecimento no final do século XVIII (KOMPANJE *et al.*, 2007). As tarefas atribuídas ao lactato incluem suas atividades como substrato para células musculares, fonte energética para células cerebrais, fonte para glicogênese e gliconeogênese no fígado, biogênese mitocondrial, supressão da lipólise, regulação da expressão gênica, recuperação de tecidos e até mesmo está sendo estudado seu papel na formação e desenvolvimento de tumores (BROOKS, 2020). No aspecto da regeneração muscular, o lactato tem sido destacado na ativação e diferenciação de células satélites musculares, principalmente no sentido de estimular fatores regulatórios miogênicos, que irão formar as miofibrilas que compõem a fibra muscular. Além de ativar as células satélites, ele estimula a formação das cadeias pesadas de miosina (MHC), que é fator central para a proliferação das miofibrilas e hipertrofia muscular (NALBANDIAN; TAKEDA, 2016; OHNO *et al.*, 2019; TSUKAMOTO *et al.*, 2018).

Dessa forma, nos estudos iniciais, o papel de descarte metabólico e antagonista da performance física era atribuído ao lactato por ser considerado o causador da fadiga muscular, porém, isso aconteceu por observações que se provaram erradas com a evolução dos estudos (BROOKS, 2020; CONNETT; GAYESKI; HONIG, 1986; PHILP; MACDONALD; WATT, 2005; TSUKAMOTO *et al.*, 2018b). Com o passar dos anos, a molécula foi sendo estudada e novas perspectivas passaram a ser descobertas. No século XX, o lactato passou de produto descartável da glicólise e de promotor da fadiga muscular para fonte alternativa de energia da respiração mitocondrial, um precursor glicogênico e uma molécula sinalizadora, sendo chamado inclusive de lactormônio por alguns pesquisadores (BROOKS, 2020; NALBANDIAN; TAKEDA, 2016; PHILP; MACDONALD; WATT, 2005).

O lactato advém da redução de seu precursor, o piruvato, que resulta na produção de uma molécula de NAD^+ no processo, podendo ser encontrado na forma de dois enantiômeros, o D-lactato e o L-lactato (HIGGINS, 2011; NELSON; COX, 2014). Por anos, foi dito que apenas o L-lactato era encontrado no corpo humano,

porém foi comprovado que o D-lactato, mesmo em doses inferiores, também está presente na corrente sanguínea, e isso é importante, pois pode causar alguns problemas, principalmente relacionados à acidose do sangue causada pela hiperlactatemia (OH, MAN S., PHELPS, KENNETH R., TRAUBE, MORRIS, BARBOSA-SALDIVAR, JOSE L., BOXHILL, CARLTON, CARROLL, 1979). Os métodos comuns de aferição dos níveis sanguíneos do lactato detectam apenas o L-lactato, e por isso muitas vezes a causa dessa acidose passa despercebida, porque o causador pode estar sendo o D-lactato (HIGGINS, 2011).

O mecanismo pelo qual o lactato atua sobre a recuperação muscular e hipertrofia ainda está em análise, mas dados atuais obtidos mostram tendência do lactato atuar de diferentes formas. Na primeira função a ser destacada, o lactato estimula a produção da follistatina, que por si só é uma proteína antagonista da miostatina (proteína responsável por inibir a miogênese), além dessa ação o lactato estimula a produção de *Myoblast Determination Protein 1* (MyoD), uma proteína com protagonismo na regulação e diferenciação muscular (OHNO et al., 2019; TSUKAMOTO et al., 2018). Como segunda função, o lactato atua sobre a liberação do *Brain-Derived Neurotrophic Factor* (BDNF), uma neurotropina que age em certos neurônios do sistema nervoso central e periférico, provendo suporte para a sobrevivência de neurônios e estimulando o crescimento e diferenciação de novos neurônios e sinapses. O lactato é fonte energética para as células neuronais e a alteração dos seus níveis circulantes atuará sobre a liberação do BDNF, que também é expresso nos músculos esqueléticos, e o mesmo pode ser liberado também por plaquetas nos processos de coagulação que ocorrem após lesões ou microlesões como as causadas pela atividade física (HASHIMOTO et al., 2018; KIM, 2016).

Hipóteses demonstram o lactato como molécula sinalizadora para algumas vias anabólicas que ativam genes responsáveis pela ativação das células satélites musculares, que são células com a capacidade de se diferenciarem e se proliferarem para aumentar o número de fibras musculares (NALBANDIAN; TAKEDA, 2016; OHNO et al., 2019; TSUKAMOTO et al., 2018). O lactato age aumentando a expressão gênica responsável pela *Myosin Heavy Chain* (MHC) e pela transcrição de MyoD, e assim como consequência desse processo é criado um ambiente intracelular favorável à ativação das células satélites musculares que

adentram a membrana e passam a se proliferar em novas miofibrilas, promovendo a recuperação muscular (NALBANDIAN; TAKEDA, 2016; TSUKAMOTO et al., 2018).

O tema funções do lactato no corpo humano apresenta muitas lacunas a serem analisadas. Dessa forma, estudar a ação do lactato na recuperação muscular se faz necessário não somente para elucidar o mecanismo pelo qual essa substância age no músculo, mas também para melhorar o desempenho físico de atletas. Pois, sabendo-se como ocorre o processo é possível prescrever treinos de forma mais adequada, como, por exemplo, o treinamento com oclusão vascular, que hoje em dia é uma forma de treinamento para atletas que visam hipertrofiar com baixas cargas, que se explica pelos mecanismos de ação do lactato (OHNO et al., 2019). Ainda é possível por meio da compreensão desses mecanismos, elaborar tratamentos para doenças que afetam o sistema muscular, como o tratamento de distrofias por meio da ação do lactato, isso por conta de sua ação sobre o balanço de folistatina e miostatina (OHNO et al., 2019).

1.1 OBJETIVO

O presente estudo pretende realizar uma revisão sistemática de artigos científicos que avaliaram os efeitos *in-vitro* e *in vivo* da relação entre o lactato e a recuperação muscular, mostrando a função de molécula sinalizadora para processos que induzem a regeneração, diferenciação e proliferação de fibras musculares.

1.2 HIPÓTESE

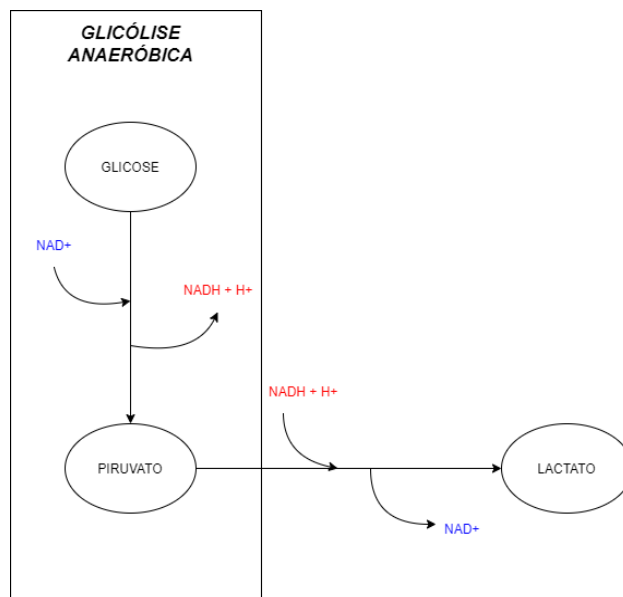
É provável que após a análise dos estudos selecionados uma correlação entre a presença de lactato nas fibras musculares e um aumento nas fibras seja observada.

2 REVISÃO DE LITERATURA

Esta revisão de literatura apresentará estudos referentes ao lactato, como sua descoberta, característica, função, atuação na regeneração muscular e sua relação com doenças do sistema muscular esquelético. Serão abordadas as características moleculares e questões históricas para uma visão geral. Em seguida, será discutido o paradigma do lactato, seguido de sua atuação para a regeneração muscular e finalizando com uma visão sobre como este composto pode vir a ser utilizado para o tratamento de doenças relacionadas ao sistema muscular.

2.1 A MOLÉCULA DE LACTATO

O lactato é uma molécula composta por três carbonos com fórmula molecular de $C_3H_6O_3$. Ele advém da redução do piruvato que é gerado pela glicólise anaeróbia, a qual ocorre no citosol das células, onde uma molécula de glicose produz duas moléculas de piruvato consumindo 2 NAD^+ , gerando 2 ATPs e mais 2 moléculas de $NADH + H^+$ (MCCARDLE; KATCH; KATCH, 2016). Com a falta de oxigênio disponível para continuar a glicólise, os dois piruvatos serão então reduzidos capturando os hidrogênios do $NADH + H^+$, formando dois lactatos e regenerando duas moléculas de NAD^+ , como mostra a figura 1. Esse é um processo fundamental por ser caracterizado como um mecanismo de obtenção de energia rápida para a continuidade de uma atividade intensa de curta duração (MCCARDLE; KATCH; KATCH, 2016).

FIGURA 1: REGENERAÇÃO DE NAD⁺ E LACTATO

FONTE: O autor (2020)

O lactato é uma molécula também conhecida por seu ácido, o ácido láctico. A diferença do ácido láctico para o lactato é apenas que o ácido láctico em pH corporal logo se ioniza liberando um íon H⁺ e um íon de lactato (La⁻), por isso de forma prática não existe ácido láctico circulante no corpo humano (NELSON; COX, 2014). Além disso, o lactato é uma molécula que possui enantiômeros: o D-lactato que desvia a luz no sentido anti-horário e o L-lactato que desvia a luz no sentido horário (enantiômeros são um tipo de estereoisômeros onde as moléculas são imagens especulares não superponíveis) (HIGGINS, 2011).

O corpo de forma geral se utiliza quase que exclusivamente de L-lactato, isso porque em células de mamíferos existe apenas a enzima lactato desidrogenase (LDH), isômero específico para o L-lactato (HIGGINS, 2011). Contudo, existe uma pequena fração de D-lactato presente na circulação, a qual é advinda da dieta, da via do metilglioxal, um produto tóxico produzido quando há uma disponibilidade exagerada de glicose (carboidratos) para o corpo e como forma de defesa a via da absorção da glicose é desviada para a via do metilglioxal para que o fosfato inorgânico seja repostado, sendo assim produzido o D-lactato (HIGGINS, 2011) e outra forma seria por meio de bactérias produtoras de lactato no intestino delgado de humanos (HIGGINS, 2011).

É relevante saber da existência do D-lactato no corpo humano, pois em certas situações ele pode ser o causador de uma hiperlactatemia, ou seja, um valor de lactato sanguíneo acima de 5,0 mmol/L, o que causa a acidose sanguínea, baixando o pH do sangue para valores abaixo de 7,35. Uma hiperlactatemia vem acompanhada por taquicardia e taquipneia, além de sobrecarregar fígado e rins, que são os órgãos responsáveis por eliminar o lactato da circulação, seja através da gliconeogênese ou da eliminação na urina (HIGGINS, 2007). Por conta disso, torna-se relevante mensurar os valores de D-lactato, pois em ocasiões específicas ele pode ser o responsável da acidificação do sangue, porém, as formas mais difundidas de detectar hiperlactatemia se baseiam em verificar apenas os valores do L-lactato, deixando os valores de D-lactato ocultos (HIGGINS, 2011).

As situações que se devem considerar a mensuração do D-lactato estão geralmente relacionadas à síndrome do intestino curto (SIC) e ocasiões às quais parte do intestino delgado é removida, como doença de Crohn em adultos, enterocolite necrotizante em crianças, câncer intestinal e cirurgias bariátricas, na qual é feito um desvio jejunoileal. Isso porque essa perda de parte do intestino acaba por afetar a absorção de nutrientes, principalmente de carboidratos, que devido a esse acúmulo acabam por alimentar as bactérias (*Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus delbrueckii subsp lactis*, *Lactobacillus buchneri*, and *Streptococcus bovis*) presentes no intestino que são responsáveis por liberar o D-lactato para a corrente sanguínea, causando um aumento nos níveis circulantes de lactato e consequentemente uma possível hiperlactatemia (HIGGINS, 2011; SCHIBLI, 2018; TAKAHASHI et al., 2013).

2.2 LACTATO – HISTÓRIA E FUNÇÃO

Desde sua descoberta, em 1780, pelo físico sueco Karl Scheele, que observou a presença do ácido láctico (lactato + H⁺) no leite azedo, o lactato se tornou objeto de estudo de vários pesquisadores (PHILP; MACDONALD; WATT, 2005), e essa seção do trabalho tratará de forma breve os eventos mais relevantes da história da pesquisa com essa substância.

Após a molécula ser descrita por Scheele ainda no século XVIII, Berzelius, em 1808, que observou a presença do lactato na musculatura de organismos mortos (BERZELIUS, 1808). Enquanto em 1858, Carl Folwarczny foi o primeiro a

demonstrar a existência do ácido láctico em um paciente vivo (KOMPANJE et al., 2007). Em 1891, Araki foi o primeiro a relacionar que o aparecimento do ácido láctico era proporcional à ativação do músculo exercitado, associando isso a disponibilidade de oxigênio (O_2) (PHILP; MACDONALD; WATT, 2005). No ano de 1907, Fletcher & Hopkins ampliaram o conhecimento sobre a molécula com uma série de experimentos em músculos de anfíbios, mostrando que o ácido láctico aparecia em resposta à contração muscular continuada na ausência de oxigênio (FLETCHER; HOPKINS, 1907). Anos mais tarde, em 1923, Hill & Meyerhof escreveram um artigo de revisão onde elaboraram dois conceitos teóricos: a identificação e nomeação do 'Ciclo do Ácido Láctico', o qual descreveram os processos de conversão do glicogênio em ácido láctico e a volta do ácido láctico a glicogênio, e o reconhecimento de duas vias distintas de suporte energético para a contração muscular, que foram nomeadas de aeróbica (ocorria na presença de O_2) e anaeróbica (ocorria na ausência de O_2) (PHILP; MACDONALD; WATT, 2005).

Com a exceção das pesquisas de Cori & Cori (1929 e 1933) que conceituaram o hoje conhecido 'Ciclo de Cori', que consiste no lactato ser levado até o fígado onde é convertido a glicose/glicogênio, todas as pesquisas nos anos seguintes focaram em provar que o lactato era o responsável da fadiga muscular ao invés de pesquisar a sua real função no organismo (KOMPANJE et al., 2007; PHILP; MACDONALD; WATT, 2005).

Enquanto que em 1985, Davis introduziu a noção de limiar anaeróbico, processo no qual ocorre acúmulo de lactato em atividades com intensidade por volta de 60 a 75% do consumo máximo de oxigênio ($VO_{2máx}$), ponto nas quais fibras glicolíticas assumiam o protagonismo da contração muscular e mudavam o uso dos substratos escolhidos para prover energia ao músculo (DAVIS, 1985), no ano seguinte, em 1986, Connet mostrou que o lactato aparecia também em exercícios moderados (abaixo do limiar anaeróbico), mesmo esse exercício ocorrendo com aporte adequado de oxigênio para a atividade (CONNETT; GAYESKI; HONIG, 1986). Entretanto em 1998, Richardson realizou experimentos com lactato e chegou a conclusão que o efluxo de lactato do músculo não tinha associação com a falta de O_2 muscular (hipóxia) (RICHARDSON et al., 1998). Kemper, em 2001, demonstrou que elevados níveis de glicólise acontecem independente do oxigênio, sem causar fadiga devido a uma remoção (*turnover*) dos íons H^+ e lactato de forma eficaz (KEMPER et al., 2001). Um ano depois, em 2002, Conley & Lindstedt classificaram o

lactato como parte integral de um sistema complexo de adequação de produção e demanda de ATP no músculo (CONLEY; LINDSTEDT, 2002).

Basicamente essa linha do tempo descreve o 'velho paradigma' do lactato, o qual passa de produto de excreção muscular e causador da fadiga a ser parte integrante do metabolismo, atuando como fonte de energia e de manutenção dos níveis de glicose circulantes e ainda como fonte de reposição do glicogênio. Abaixo no QUADRO 01 é possível observar a síntese sobre a perspectiva do lactato no decorrer do tempo:

TABELA 1: O HISTÓRICO DO LACTATO / ÁCIDO LÁTICO

ANO	AUTOR	PERSPECTIVA SOBRE O LACTATO
1780	Karl Scheele	Observou a presença do ácido láctico (lactato + H ⁺) no leite azedo
1808	Berzelius	Observou a presença do lactato na musculatura de organismos mortos
1858	Carl Folwarczny	Primeira demonstração da existência do ácido láctico em um paciente vivo
1891	Araki	Relacionou o aparecimento do ácido láctico à ativação do músculo exercitado, associando a disponibilidade de oxigênio
1907	Fletcher & Hopkins	Ampliaram o conhecimento sobre a molécula com uma série de experimentos em músculos de anfíbios, mostrando que o ácido láctico aparecia em resposta à contração muscular continuada na ausência de oxigênio
1923	Hill & Meyerhof	Identificação e nomeação do 'Ciclo do Ácido Láctico' e o reconhecimento de duas vias distintas de suporte energético para a contração muscular (aeróbica e anaeróbica)
1929 e 1933	Cori & Cori	Conceituaram o hoje conhecido 'Ciclo de Cori', que consiste no lactato ser levado até o fígado onde é convertido a glicose/glicogênio
1985	Davis	Introduziu a noção de limiar anaeróbico, processo no qual ocorre um acúmulo de lactato em atividades com intensidade por volta de 60 à 75% do consumo máximo de oxigênio (VO ₂ máx)
1986	Connet	Mostrou que o lactato aparecia também em exercícios moderados (abaixo do limiar anaeróbico), mesmo esse exercício ocorrendo com aporte adequado de oxigênio para a atividade
1998	Richardson	Realizou experimentos com lactato e chegou a conclusão que o efluxo de lactato do músculo não tinha associação com a falta de O ₂ muscular
2001	Kemper	Demonstrou que elevados níveis de glicólise acontecem independente do oxigênio, sem causar fadiga devido a uma remoção (<i>turnover</i>) dos íons H ⁺ e lactato de forma eficaz
2002	Conley & Lindstedt	Classificaram o lactato como parte integral de um sistema complexo de adequação de produção e demanda de ATP no músculo

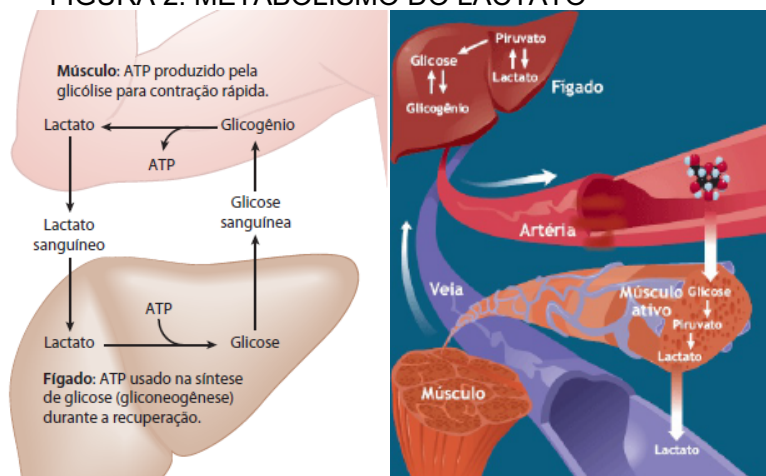
FONTE: O autor (2020)

2.2.1 Atual Função do Lactato na Fisiologia do Metabolismo Humano

Apesar de o lactato ser produto final da glicólise anaeróbia, isso não significa que seja um produto de descarte, pelo contrário ele é parte integrante de um sistema energético fundamental do corpo (MCCARDLE; KATCH; KATCH, 2016). A primeira parte da glicólise, também chamada de glicólise anaeróbia tem um saldo de 2 ATPs e produz duas moléculas de piruvato, um saldo pequeno de energia, no entanto é feito de forma rápida quando comparado com a glicólise aeróbia (NELSON; COX, 2014). O piruvato por sua vez, em fibras musculares do tipo I é transportado para dentro da mitocôndria e segue pelo ciclo de Krebs para completar toda a glicólise, no entanto em células musculares do tipo II (de contração rápida e que não possuem o maquinário para continuar a glicólise), o piruvato é convertido pela enzima lactato desidrogenase (LDH) em lactato, esse processo de redução do piruvato consome $\text{NADH} + \text{H}^+$ e libera um NAD^+ , um passo fundamental para a continuidade da glicólise anaeróbia, pois ela é dependente do NAD^+ . O lactato então produzido é exportado para células adjacentes ou vai para outros tecidos (NELSON; COX, 2014).

O lactato é capturado por células vizinhas e usado como fonte direta de energia, pois após adentrar a célula ele é transportado para dentro da mitocôndria e já em seu interior uma nova enzima lactato desidrogenase (mLDH) entra em ação para converter o lactato em piruvato novamente e esse continuar a oxidação de sua cadeia carbônica pelo ciclo de Krebs (MCCARDLE; KATCH; KATCH, 2016). O lactato que vai para a corrente sanguínea atinge outros tecidos pelo corpo, por exemplo, no cérebro e coração, o lactato é fonte indispensável de energia, principalmente durante a prática de exercício físico. Outro tecido alvo de relevância é o fígado, onde o lactato irá desempenhar a função de manter os níveis de glicose circulantes e de estoque de glicogênio hepático, isso porque no fígado o lactato novamente é reconvertido a piruvato e ao invés de seguir pela glicólise, o piruvato é reduzido até glicose pelo processo de gliconeogênese e quando não há a necessidade de ser colocada na circulação, passa pelo processo de glicogênese repondo os estoques de glicogênio do fígado (MCCARDLE; KATCH; KATCH, 2016; NELSON; COX, 2014). Esse processo foi detalhado por Cori & Cori (1929), como mencionados anteriormente e até hoje é conhecido como Ciclo de Cori (CORI; CORI, 1929).

FIGURA 2: METABOLISMO DO LACTATO



Fonte: NELSON & COX (p.948; 2014) Fonte: MCCARDLE; KATCH; KATCH (p.285; 2016)

2.3 LACTATO – O NOVO PARADIGMA

Desde sua descoberta até hoje, o lactato já foi responsável por inúmeros fatos atribuídos a ele, alguns verdadeiros, outros comprovadamente falsos. Nos seus primórdios, o lactato era basicamente o produto (descartável) da glicólise anaeróbia e recebia a alcunha de responsável pela fadiga muscular (BROOKS, 1985; DAVIS, 1985). Como descrito na seção acima, inúmeros estudos vieram mostrar que seu papel era muito maior do que o inicialmente proposto para ele, antes era apenas um metabolito descartável que prejudicava a performance física, já no começo dos anos 2000 seu papel já era considerado como parte integral do metabolismo energético, sendo combustível para outras células e tecidos, e além disso, é um regulador dos níveis de glicose sanguínea por ser o precursor gliconeogênico no fígado (BROOKS, 2020; PHILP; MACDONALD; WATT, 2005).

A perspectiva mais atual para o futuro do lactato é, o chamado de 'Novo Paradigma do Lactato', o qual propõe para a molécula o papel de fulcro do metabolismo, onde ele deixa de ser apenas parte integral do sistema energético e de controle da glicose, para ser o protagonista de inúmeras ações em toda a fisiologia do corpo humano, sendo assim ele assume o papel de 'Lactormônio' atuando como mensageiro endócrino (BROOKS, 2020).

Alguns processos atribuídos ao lactato no seu novo paradigma são: a biogênese mitocondrial - uma cascata de eventos sinalizada pelo lactato que envolve espécies reativas de oxigênio, cálcio citosólico e outros fatores que afetam a biogênese mitocondrial -; controle da mobilização de ácidos graxos e sua oxidação por inibição – o lactato se liga em um receptor (HCAR-1) e seu efeito, aparentemente por meio de sua atuação sobre o adenosinomonofosfato cíclico (AMPC), é de inibir a lipólise -; inibidor da β -oxidação mitocondrial – juntamente com o piruvato, o lactato atua fechando os canais de entrada de ácidos graxo ativos na mitocôndria, inibindo assim a β -oxidação –; regulação de genes por meio de lactilação de histonas; ação sobre a microbiota intestinal (BROOKS, 2020).

Contudo nem todas suas ações são apenas benéficas, o lactato também vem sendo estudado pela sua participação na proliferação e maturação de tumores cancerígenos, isso devido principalmente a sua ação sobre o fator de crescimento do endotélio vascular (VEGF), ele também pode estar envolvido no processo de regulação da glicemia se o seu transportador nas células β pancreáticas não estiver silenciado (BROOKS, 2020; PHILP; MACDONALD; WATT, 2005).

Anteriormente foram citadas algumas das novas funções do lactato, mas o presente estudo focalizará em uma específica, que é a ação do lactato sobre a regeneração do tecido muscular após uma lesão (ou micro lesão, como a provocada pelo exercício). Neste ponto, alguns estudos parecem apontar a atuação do lactato como sinalizador para a proliferação e regeneração do tecido muscular por estimular a produção de alguns fatores reguladores miogênicos (MRFs), como por exemplo a proteína determinante de mioblastos 1 (MyoD1), que basicamente é uma das proteínas responsáveis pela produção da cadeia pesada de miosina, uma das proteínas fundamentais do tecido muscular (BROOKS, 2020; TSUKAMOTO et al., 2018b).

Desta forma, para o futuro do lactato, ele deixa de ser um auxiliar metabólico e passa a ser o protagonista, assumindo de vez o seu papel de lactormônio, e sendo o responsável por ações endócrinas que vão ter efeitos sobre o metabolismo em geral (BROOKS, 2020).

2.4 LACTATO E A REGENERAÇÃO MUSCULAR

2.4.1 Estrutura Muscular

O corpo humano apresenta três tipos de músculos, o liso (ML), o estriado cardíaco (MC) e o estriado esquelético (ME), sendo esse último o foco da presente revisão. São aproximadamente 660 ME espalhados pelo corpo, todos de contração voluntária, ou seja, todos podem ser controlados em questão de amplitude ou velocidade de movimento através do sistema nervoso (SN) que inerva esses músculos. Cada um deles composto por milhares de células cilíndricas com invólucros de tecido conjuntivo chamados de fibras musculares (FM) (MCARDLE; KATCH; KATCH, 2016).

As FM são longas, finas e multinucleadas ficando paralelas umas às outras, com a força da contração dirigida ao longo do seu eixo longitudinal e seu número se mantém quase inalterado a partir do segundo trimestre do desenvolvimento fetal, enquanto seu comprimento varia de alguns milímetros a até 30 cm (MCARDLE; KATCH; KATCH, 2016).

O ME possui algumas divisões importantes para seu funcionamento: o endomísio, que é uma fina camada de tecido conjuntivo que envolve cada fibra muscular e a separa das fibras vizinhas, o perimísio, que circunda um feixe de até 150 fibras denominado fascículo, e por fim o epimísio, que envolve o músculo inteiro. Este último é o que se afunila nas suas extremidades para formar os tendões de tecido conjuntivo que são as unidades que conectam o ME ao periósteo (estrutura mais externa dos ossos) (MCARDLE; KATCH; KATCH, 2016).

Abaixo do endomísio está o sarcolema, uma membrana fina e elástica que envolve cada FM e é composta por duas membranas, a plasmalema, responsável por conduzir a despolarização sobre a superfície da FM, e a basal, que se funde com as fibras colágenas na cobertura externa do tendão (MCARDLE; KATCH; KATCH, 2016). No espaço intermembranoso existem as células-tronco miogênicas conhecidas como células satélites (CSat), mioblastos normalmente quiescentes que funcionam no crescimento celular regenerativo proporcionando possíveis adaptações ao treinamento físico e na recuperação após uma lesão. A incorporação dos núcleos das CSat às FM já existentes parece ser o mecanismo de hipertrofia induzida pelo exercício (MCARDLE; KATCH; KATCH, 2016).

Ao adentrar o plasmalema, são encontrados o sarcoplasma, onde se tem enzimas, partículas de gordura e de glicogênio, núcleos que contêm os genes, as mitocôndrias e outras organelas, e o retículo sarcoplasmático, que é responsável por fazer com que a onda de despolarização possa propagar-se rapidamente da superfície externa da fibra para seu meio interno por meio do sistema de túbulos T, desencadeando assim a contração muscular (MCARDLE; KATCH; KATCH, 2016).

Uma única FM multinucleada é composta por unidades funcionais ainda menores, as fibrilas ou miofibrilas, que por sua vez são compostas por subunidades ainda menores, denominadas filamentos ou miofilamentos, esses são formados basicamente por conjuntos ordenados de actina e miosina (proteínas musculares) que compõem cerca de 85% do complexo miofibrilar. Outras doze a quinze proteínas presentes na FM desempenham uma função estrutural ou afetam a interação dos filamentos proteicos durante a contração muscular (MCARDLE; KATCH; KATCH, 2016).

Compondo as miofibrilas existem as unidades funcionais musculares, chamadas de sarcômeros, formados por dois filamentos, o fino e o grosso. O filamento fino (FF) do sarcômero é composto do agrupamento de três proteínas: actina, troponina e a tropomiosina. O filamento grosso (FG) é feito apenas de miosina (MCARDLE; KATCH; KATCH, 2016). Os filamentos de miosina consistem em feixes de moléculas com caudas polipeptídicas e cabeças globulares, já os filamentos de actina possuem duas cadeias entrelaçadas de monômeros unidas por cadeias polipeptídicas de tropomiosina. Esses filamentos estão dispostos em um arranjo hexagonal onde seis filamentos de actina relativamente finos circundam o filamento de miosina mais espesso. As cabeças de miosina globulares estendem-se perpendicularmente ao longo do FG, para interagir com os filamentos de actina mais finos e duplamente entrelaçados a fim de formar elos estruturais e funcionais entre os miofilamentos, permitindo que a contração muscular ocorra quando os filamentos "deslizam" um sobre os outros, encurtando assim o sarcômero e por consequência o músculo (MCARDLE; KATCH; KATCH, 2016).

Vale ressaltar que ainda que a estrutura básica das fibras seja a mesma, elas podem ser divididas em dois tipos básicos de fibras (e seus subgrupos, que são a mescla dos dois grandes grupos): fibras de contração rápida, também chamadas de FM tipo II ou brancas, são FM com alta capacidade para a transmissão eletroquímica dos potenciais de ação, alta atividade de miosina ATPase, liberação e

captação rápidas de Ca^{2+} por um retículo sarcoplasmático eficiente e alta taxa de renovação das pontes cruzadas; e fibras de contração lenta, também chamadas de FM tipo I ou vermelhas (por apresentarem na sua composição a proteína mioglobina), geram energia para a ressíntese do ATP predominantemente pelo sistema aeróbico de transferência de energia, possuem baixa atividade de miosina ATPase, tem capacidade de manipulação do cálcio e velocidade de encurtamento lenta, sua ação glicolítica é menos bem-desenvolvida que as fibras de contração rápida e possui mitocôndrias grandes e numerosas (MCARDLE; KATCH; KATCH, 2016).

2.4.2 Regeneração Muscular

O processo de regeneração muscular é algo complexo a ser percorrido. Desde a descoberta das CSat, essas têm sido alvo de estudos em relação ao desenvolvimento e regeneração muscular, visto que já foi estabelecido que elas estão presentes nos processos (ASFOUR; ALLOUH; SAID, 2018; TSUKAMOTO et al., 2018). As CSat participam do processo de proliferação e diferenciação do tecido muscular no momento em que passam do espaço intermembranoso para dentro da plasmalema, e a partir daí tornam-se mais uma miofibrila a compor a FM. No entanto, isso não acontece de forma tão simples, o exercício físico pode ser o iniciador dessa cascata de eventos, mas a nível celular/bioquímico, muitos componentes participam dessa “ativação” da CSat. Um dos protagonistas dessa regeneração/proliferação são os Fatores Regulatórios Miogênicos (MRFs) (ASFOUR; ALLOUH; SAID, 2018).

Até o momento, foram identificados quatro MRFs, sendo o Fator de Determinação Miogênica 1 (MyoD) o primeiro a ser descoberto, as outras três são Fator miogênico 5 (Myf5), Myogenina e Herculina (MRF4) (ZAMMIT, 2017). Ainda que sejam proteínas com sequências de aminoácidos distintas, todos os MRFs possuem três domínios estruturais homólogos entre eles: o primeiro é chamado de *basic helix-loop-helix* (bHLH), o segundo é um domínio de cisteína/histidina e o terceiro é um domínio rico em serina/treonina. Desses domínios, o bHLH é o mais relevante para a ativação da miogênese, pois é o domínio que pode se ligar em uma região do DNA chamada E-box (ASFOUR; ALLOUH; SAID, 2018).

Quando um estímulo é dado aos músculos (por exemplo, exercício, estimulação elétrica, preparo farmacêutico, esteroides androgênicos) as CSat são ativadas para miogênese. A partir de então, MRFs, principalmente Myf5 e em menor proporção MyoD, são ativados, fazendo com que a CSat saia de seu estado dormiente e passe a se proliferar no espaço intermembranoso (TSUKAMOTO et al., 2018). Depois de um período de tempo, os MRFs, Myogenina e MRF4, passam a ser expressos juntos, já na fase de diferenciação, e isso é o indicador para que as novas células musculares sejam incorporadas para o plasmalema, dando início ao processo de regeneração/proliferação muscular (ASFOUR; ALLOUH; SAID, 2018). Cabe ressaltar aqui que algumas CSat se proliferam de forma assimétrica, com a regulação da expressão do seu PAX7 e Myf5, e assim voltam ao seu estado de dormência, mantendo uma reserva de CSat para um evento futuro de divisão e diferenciação (ASFOUR; ALLOUH; SAID, 2018; RELAX et al., 2006).

2.4.3 Lactato e Regeneração Muscular

Ainda que o mecanismo pelo qual as CSat participam da regeneração e diferenciação muscular sejam motivo de debate na academia, é evidente que sua função é primordial para a hipertrofia e multiplicação das miofibrilas (JOANISSE et al., 2013; PETRELLA et al., 2008). As micro lesões induzidas por exercícios resistidos ou de alta intensidade são indutores para a ativação das CSat (VIERCK et al., 2000), contudo exercícios moderados ou a restrição do oxigênio no músculo alvo também estimulam a ativação das CSat (LIU et al., 2012; MACKEY et al., 2011; NIELSEN et al., 2012), isso aponta que as CSat se beneficiam de alguns marcadores anaeróbicos para serem ativadas, e assim o lactato se apresenta como candidato.

Estudos recentes observaram a ação do lactato sobre os MRFs, apontando que o lactato age aumentando a expressão de MyoD e MRF4 em células de ratos *in vitro* (OHNO et al., 2019; TSUKAMOTO et al., 2018), o que indicaria uma ação miogênica da molécula. Além disso, o lactato aumenta expressão da cadeia pesada de miosina, uma parte fundamental da formação da proteína miosina, que forma os FG do músculo (NELSON; COX, 2014; TSUKAMOTO et al., 2018). Os achados apontam para um mecanismo em que o lactato atua mudando o balanço de NAD^+/NADH na célula, e isso aciona um mecanismo de autorregulação elevando a

expressão de MyoD, desencadeando uma cascata de eventos que promove a regeneração do tecido muscular (OMLIN; WEBER, 2013; TSUKAMOTO et al., 2018).

Outro mecanismo pelo qual o lactato pode agir na regeneração muscular é promover a produção e secreção de folistatina, uma proteína que atua inibindo a miostatina, impossibilitando a ativação de CSat. Assim o lactato estimularia a ativação das CSat e induziria a consequente proliferação e diferenciação das células musculares, um dos possíveis pontos que justificariam o treinamento com oclusão vascular, pois o confinamento do lactato no músculo ativado teria uma maior inibição da miostatina local, promovendo uma maior ação dos MRFs no local. (ASFOUR; ALLOUH; SAID, 2018; OHNO et al., 2019).

Há ainda uma lacuna para elucidação do real mecanismo pelo qual o lactato age na proliferação e regeneração das fibras musculares. No entanto, esta revisão de literatura pretendeu mostrar sobre o estado da arte de como o lactato é visto atualmente e como atua neste processo deixando claro que o lactato já não é mais um descarte metabólico e participa de uma cascata de eventos que tende a promover a diferenciação de CSat musculares.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 TIPO DO ESTUDO

O estudo é caracterizado como uma revisão sistemática, em que a análise de estudos sobre o tema selecionado busca responder à pergunta norteadora: A administração de lactato induz a regeneração muscular em modelos *in vivo* e *in vitro*? Os rigores estabelecidos na literatura foram seguidos e respeitados, baseando-se no protocolo *PRISMA statment* e PROSPERO. O estudo foi registrado e aprovado na plataforma PROSPERO com o código de registro número CRD42020209324.

3.2 DESCRITORES PARA A SELEÇÃO DOS ESTUDOS

A partir dos descritores da Ciência da Saúde (DeCs) e do *Medical Subject Headings* (MeSH) foram selecionados para a presente pesquisa os descritores em português: lactato, ácido láctico, regeneração muscular, proteína MyoD e Miogenina, e em língua estrangeira inglesa: *lactates*, *lactic acid*, *muscle regeneration*, *MyoD protein*, *myogenin*.

Para a busca dos artigos utilizou-se de combinações dos descritores citados, tanto de língua portuguesa quanto inglesa conforme a base de dados, utilizando dos operadores booleanos AND e OR, sendo os termos agrupados da seguinte forma: ((lactato OR "ácido láctico") AND ("regeneração muscular" OR "proteína MyoD" OR miogenina)), (("lactic acid" OR *lactates*) AND ("muscle regeneration" OR "*myoD protein*" OR *myogenin*)).

3.3 CRITÉRIOS DE ELEGIBILIDADE

Para inclusão dos artigos, os critérios adotados foram: (I) foram incluídos estudos experimentais em modelos animais que investigaram o uso de lactato em relação ao músculo (todas as espécies, todos os sexos); (II) foram incluídos estudos *in vitro* combinados com estudos *in vivo*, caso usassem a mesma espécie e sexo para investigar o uso de lactato na regeneração muscular; (III) estudos *in vitro* que investigaram o uso do lactato em relação à regeneração muscular. Nenhuma

restrição foi aplicada em relação à via de administração, dosagem, duração do estudo ou frequência da dosagem.

Para exclusão dos artigos, os critérios adotados foram: (I) estudos experimentais apenas com pacientes humanos; (II) se o lactato e seu papel não forem o foco principal do estudo (III) grupo controle não incluído ou veículo / controle não definido (IV) estudos de caso.

3.4 BASES DE DADOS E ESTRATÉGIA DA BUSCA

A pesquisa de dados foi realizada em setembro de 2020, nos seguintes bancos de dados: WebOfScience, Scopus, ScienceDirect, PubMed e Biblioteca Virtual em Saúde (BVS) em português e inglês. A busca foi realizada por dois pesquisadores de forma independente, sendo a seleção dos artigos feita de acordo com os critérios de inclusão e exclusão predeterminados. Em caso de discordância entre a seleção de algum título, resumo ou artigo, um terceiro pesquisador foi consultado.

3.5 EXTRAÇÃO E TRATAMENTO DOS DADOS

A extração dos dados foi de caráter qualitativo, sendo extraído o país/local da pesquisa, a característica e quantidade da amostra (qual a cultura de células utilizada), as variáveis analisadas pelo estudo assim como os métodos (concentrações utilizadas e tempo de exposição) para mensuração dessas variáveis e informações de resultados (expressão de proteínas miogênicas). Os dados extraídos de cada estudo foram tabulados para análise dos resultados obtidos.

3.6 PONTUAÇÃO DA QUALIDADE METODOLÓGICA

Posteriormente, os estudos eleitos foram lidos na íntegra e avaliados em relação a sua qualidade metodológica através do Risk of Bias - RoB 2 (2019) para estudos randomizados e não randomizados.

A ferramenta utiliza uma série de perguntas que classificam o risco de viés dos estudos, os classificam como estudos de '*High*' (alto risco), '*Some Concerns*' (algumas preocupações) e '*Low*' (baixo risco). As perguntas respondidas cobrem 5

áreas de classificação dos estudos, o processo de randomização, desvios das intervenções pretendidas, dados de resultados perdidos, medição de dados de resultado e seleção do resultado relatado. Com as respostas destas 5 áreas, o risco geral de viés é dado pela ferramenta considerando destas 5 áreas.

4 RESULTADOS

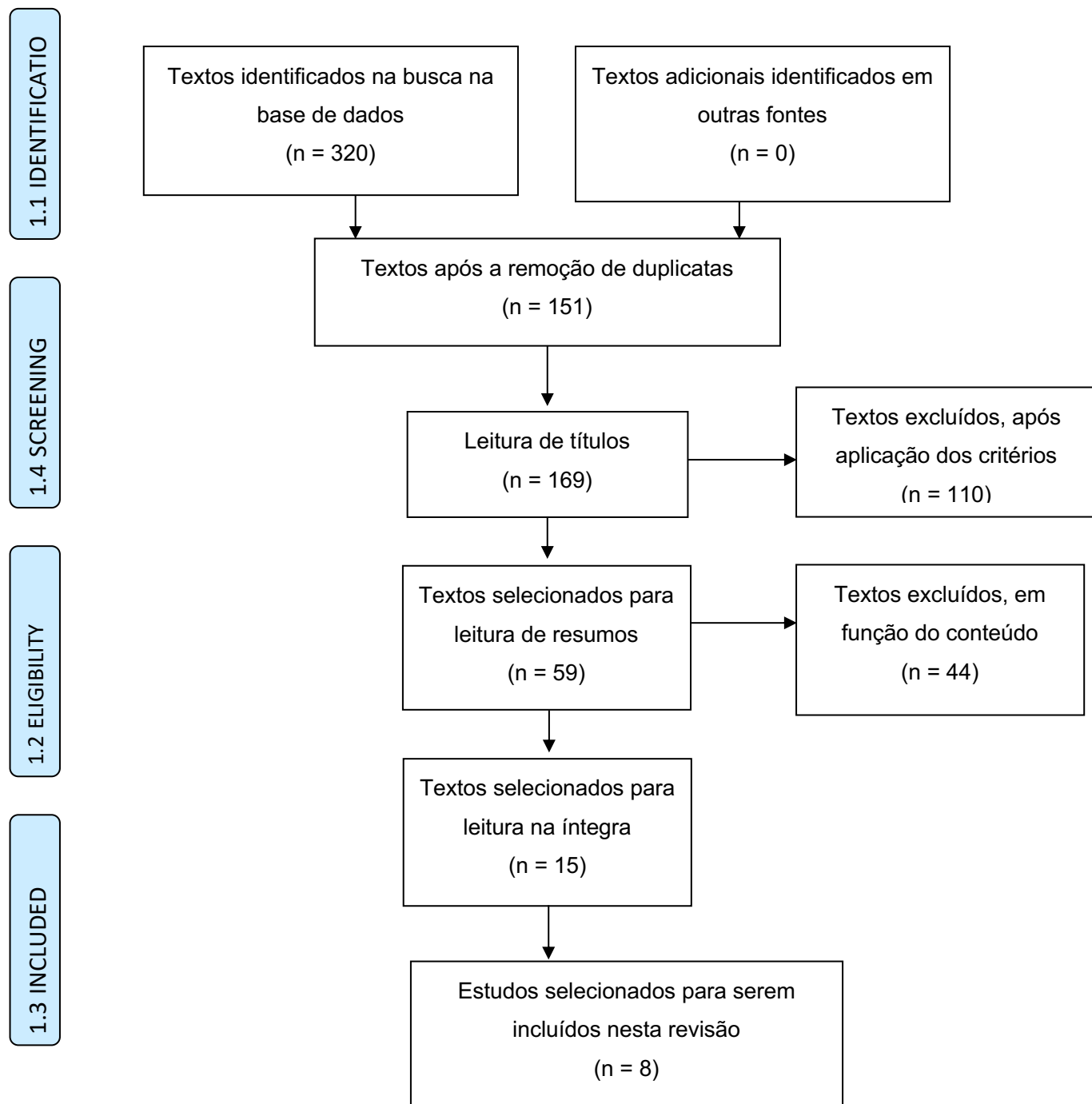
Foram encontrados 320 artigos em todas as bases de dados, sendo 51 da WebOfScience; 159 Scopus; 13 ScienceDirect; 71 PubMed; 26 BVS (sendo 22 estudos advindos das combinações em inglês e 4 das combinações em português). Após a revisão de trabalhos repetidos, restou um total de 169, os quais foram analisados separadamente de acordo com título.

Na combinação (*"lactic acid"* OR *lactates*) AND (*"muscle regeneration"* OR *"myoD protein"* OR *myogenin*)) foram excluídos 10 artigos que não eram pesquisas originais (capítulos, resumos, carta ao editor, editorial e consensos), 15 que tratavam de músculos que não eram estriados esqueléticos, cinco que não tinham relação com o lactato, 80 que não eram relacionados ao tema. Assim, de 169 artigos não repetidos, restaram 59 estudos de interesse de acordo com o título para a leitura do resumo. Após a leitura dos resumos foram selecionados 23 artigos para leitura do texto na íntegra, desse total foram escolhidos 15 artigos por atenderem os critérios pré-estabelecidos. Por fim, desses 15 artigos, sete foram retirados por não terem correlação do lactato e a miogênese, sendo selecionados para essa revisão oito artigos ao final da aplicação dos filtros. A seguir será apresentado o fluxograma da seleção dos estudos (FIGURA 3).

FIGURA 3: FLUXOGRAMA COM AS ETAPAS DA SELEÇÃO DOS ESTUDOS



PRISMA 2009 Diagrama De Fluxo



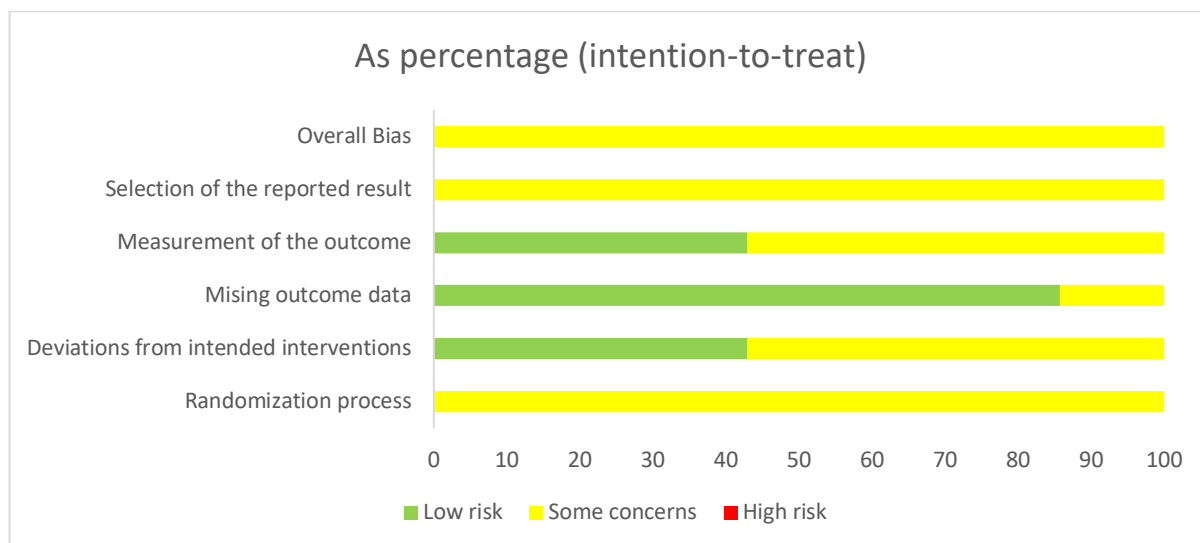
FONTE: O autor (2020)

4.1 AVALIAÇÃO DA QUALIDADE METODOLÓGICA

Dos oito artigos analisados, todos receberam a classificação ‘Algumas Ressalvas’. Como os oito artigos são apenas com amostras *in-vitro* e modelos animais, responderam questões de estudos classificados como *Intention-To-Treat* (ITT), isso porque suas amostras são avaliadas sem exclusões durante todo o tempo do estudo, independente do tratamento avaliado.

De acordo com a planilha da ferramenta RoB com suas cinco áreas para classificar o risco de viés de cada artigo, na área de processo de randomização todos os oito artigos receberam a classificação de ‘Algumas Ressalvas’, em desvios das intervenções pretendidas; cinco estudos (ACHARYA et al., 2017; BARJOT et al., 1998; OH et al., 2019; TSUKAMOTO et al., 2018b; WASHINGTON et al., 2013) receberam a classificação de ‘Algumas Ressalvas’ e três (OHNO et al., 2019; OISHI et al., 2015; WILLKOMM et al., 2017) receberam a classificação de ‘Baixo’, em dados de resultados perdidos; apenas um estudo (ACHARYA et al., 2017) recebeu a classificação ‘Algumas Ressalvas’ enquanto os outros seis receberam a classificação ‘Baixo’, em medição de dados de resultado; cinco estudos (ACHARYA et al., 2017; BARJOT et al., 1998; OH et al., 2019; OISHI et al., 2015; WASHINGTON et al., 2013) receberam a classificação ‘Algumas Ressalvas’ e três (OHNO et al., 2019; TSUKAMOTO et al., 2018b; WILLKOMM et al., 2017) receberam a classificação ‘Baixo’ e por fim na área seleção do resultado relatado todos os oito estudos receberam a classificação ‘Algumas Ressalvas’. Ao final, com a avaliação destas cinco áreas de perguntas a ferramenta RoB classificou todos os oito estudos como ‘Algumas Ressalvas’.

GRÁFICO 1: QUALIDADE DOS ESTUDOS SELECIONADOS



Fonte: O autor (2021)

4.2 CARACTERIZAÇÃO DOS ESTUDOS

O ano de publicação dos estudos variou de 1998 (BARJOT et al., 1998) a 2019 (OH et al., 2019; OHNO et al., 2019). A maioria das pesquisas foram realizadas na Ásia, quatro ao todo (OH et al., 2019; OHNO et al., 2019; OISHI et al., 2015; TSUKAMOTO et al., 2018), duas na Europa (BARJOT et al., 1998; WILLKOMM et al., 2017) e duas na América do Norte (ACHARYA et al., 2017; WASHINGTON et al., 2013).

As características das amostras incluídas estão claramente descritas na maioria dos estudos, sendo que em seis deles (ACHARYA et al., 2017; FRAWLEY et al., 2018; OH et al., 2019; OHNO et al., 2019; OISHI et al., 2015; TSUKAMOTO et al., 2018b; WILLKOMM et al., 2017) as células utilizadas foram células de mioblastos de ratos C2C12, uma linhagem de células que foram imortalizadas e hoje são comercializadas para que sejam utilizadas em estudos com o propósito de avaliar alterações e a formação do músculo. Em um estudo (BARJOT et al., 1998), foram utilizadas células musculares da pata traseira de embriões de coelho branco da Nova Zelândia. Adicionalmente às células C2C12, três estudos utilizaram células de ratos (OHNO et al., 2019; OISHI et al., 2015; TSUKAMOTO et al., 2018b). E no único estudo exclusivamente feito com modelo animal, foram utilizados ratos machos C57/BL6 com lesões induzidas por bupivacaína (WASHINGTON et al., 2013). As características e principais resultados dos estudos constam na tabela 2.

TABELA 2: CARACTERIZAÇÃO DOS ESTUDOS SELECIONADO

AUTOR / ANO / LOCAL / TIPO DE ESTUDO	AMOSTRA	VARIÁVEIS ANALISADAS	RESULTADOS PRINCIPAIS
Barjot C. et al. (1998) França Experimental	Células musculares da pata traseira de embriões de coelho branco da Nova Zelândia	Reatividade da Desmina / Expressão de mRNAs dos MRFs / Expressão dos genes da LDH / Expressão dos genes da MyHC	Desmina muda a sua orientação / Myf5, MyoD, miogenina e MRF4 mRNA estão presentes desde o dia 1 da cultura / atividade da LDH aumentou durante a fase de proliferação e diferenciação das células / MyHC adultas lentas foram detectadas em algumas miofibras enquanto MyHC adultas rápidas não foram detectadas
Washington et al. (2013) Estados Unidos Experimental	Ratos machos C57/BL6	Expressão de MRF e fatores de crescimento, MCT1 e MCT4, da LDH-A e LDH-B	IGF-1 aumentou 5 vezes e MyoD aumentou 4 vezes 3 dias após a lesão no músculo / MCT1 e 4 diminuíram 3 dias após a lesão / LDH-A aumentou 71% e LDH-B diminuiu 53%
Oishi Y. et al. (2016) Japão Experimental	Células C2C12 e ratos F344/DuCr1Cr1j machos	Efeitos do LA, CA, ou do composto LC na atividade da célula-satélite, ciclo celular e sinais anabólicos musculares nas C2C12 / Efeitos do treino e LC no peso muscular, conteúdo de DNA, concentração de proteína miofibrilar, atividade da célula-satélite e expressão de Fst e Mstn	Células satélites ativadas apresentam maior expressão de MyoD - LC aumentou significativamente os níveis de proteína MyoD quando comparado com o grupo LA / tratamento com LC aumentou a Ki67 / LA e LC apresentaram uma maior presença de Fst do que o controle sem alterarem a Mstn
Acharya S. et al. (2017) Estados Unidos Experimental	Células C2C12	Efeito antioxidante da MF / Efeito protetivo da MF contra o estresse oxidativo - examinando a expressão de MRFs / Efeito da MF na expressão do Nrf2	A eficácia da MF foi similar ao do AA e MY nas concentrações 100 μ M - 10 μ M / LA (20 mM) reduziu a viabilidade celular mas 25 e 50 μ M MF recuperaram isso / MyoD e Miogenina tiveram uma maior expressão quando combinado o LA com a MF ou o AA a 50 μ M / Efeito dose dependente da MF na expressão do Nrf2
Willkomm L. et al. (2017) Alemanha Experimental	Células C2C12 e 15 homens saudáveis (idade: 23 $\pm$ 3 anos; altura: 180 $\pm$ 6cm; peso: 76.2 $\pm$ 8.3 kg)	LA e proteína p38 / LA e H3K4me3 / LA e Myf5, myogenin e MyHC	20mM de LA nas C2C12 por 24h p38 sumiu e a H3K4me3 foi inibida na solução com LA até sumir após 24h / a solução com 20mM também suprimiu a expressão de mRNA para esses MRFs
Tsukamoto S. et al. (2018) Japão Experimental	Células C2C12 e ratos ICR machos	LA como promotor da diferenciação de mioblastos / LA melhorando a transcrição dos genes de MyoD e MyHC / LA aumenta a transcrição de isoformas de MyHC de forma dose-dependente	5 dias com 10mM de LA acelerou a fusão dos mioblastos e a hipertrofia dos miotubos / Níveis de Myf5 e miogenina não se alteraram na presença do LA, mas Myh4 teve um aumento significativo na presença do LA, o que aumentou a quantidade de MyHC presente nos miotubos formados / O MyoD também foi influenciado pelo LA / LA acima de 6 mM afeta diretamente a expressão de Myh4
Oh S. et al. (2019) Coreia do Sul Experimental	Células C2C12	Respostas iniciais da sinalização da via AMPK ao LA / Respostas iniciais de proteínas miogênicas e da via Akt-FOXO3a ao LA / Respostas tardias da sinalização da via AMPK ao (LA) / Inibição das vias miogênicas mediadas por Akt pela sobrecarga de LA por 24h	LA a 8mM por 1h não teve diferença significativa nos níveis de p-AMPK / LA a 8mM por 1h não teve diferença significativa nos níveis de proteínas miogênicas e da via Akt-FOXO3a / LA (8 mM) por 24 h aumentou significativamente o nível de p-AMPK / LA (8 mM) por 24 h inibiu os níveis de p-Akt e a expressão de MyoD e MyHC
Ohno Y. et al. (2019) Japão Experimental	Células C2C12 e ratos C57BL/6J machos	Efeitos do LA no músculo esquelético para hipertrofia e regeneração / Efeitos do LA na formação de miotubos	Miotubos de células tratadas com LA (20mM) apresentaram maior diâmetro, maior comprimento e mais mionúcleos quando comparados com os do grupo controle

Nota: MRFs = *myogenic regulatory factors*, LDH = Lactato Desidrogenase, MyHC = *Myosin Heavy Chain*, MCT = *monocarboxylate transporter*, IGF = *insulin growth factor*, LA = lactato, CA = cafeína, LC = lactato + cafeína, Fst = folistatina, Mstn = miostatina, MF = maniflavona, AA = Ácido Ascórbico, MY = miricetina

Fonte: O Autor (2021)

Barjot C. et al. (1998) concluiu ao final do seu estudo que miotubos diferenciados de mioblastos em culturas de células expressam o fenótipo relacionado com o músculo de onde foram isolados. Por outro lado, Washington et al. (2013) chega à conclusão de que a proliferação de células musculares utiliza o metabolismo anaeróbico para suprir a demanda energética, os dados de seu estudo apresentam uma forma dessa demanda ser suprida. Oishi Y. et al. (2016) sugere que a administração do composto LC pode aumentar a massa muscular de forma eficiente com efeito concomitante de elevar o número de mionúcleos, mesmo com exercícios em baixa intensidade, já que aumenta a atividade das células satélites e a presença de marcadores anabólicos no músculo.

Acharya S. et al. (2017) encerra seu trabalho afirmando que a menor citotoxicidade da maniflavona quando comparado com ácido ascórbico e mirecetin, aliado ao efeito antioxidante forte e uma melhor miogênese nos mioblastos C2C12 caracteriza a maniflavona como um excelente composto antioxidante nas células músculo esqueléticas. Willkomm L. et al. (2017) conclui que o tempo observado de diminuição induzida por lactato na resposta dependente da fosforilação de p38 e H3k4me3 enfatiza um mecanismo que reduz temporariamente a sinalização a fim de priorizar temporariamente a rede de sinalização para ajustar a adaptação dirigida e expressão gênica.

Tsukamoto S. et al. (2018) finaliza seu trabalho afirmando que a elevação sustentada de lactato auxiliaria na diferenciação miogênica assim como na hipertrofia da fibra muscular e o mecanismo sugerido seria pelo aumento da expressão de MyoD facilitado pelo lactato. Oh S. et al. (2019) diz ao final de seu estudo que a sobrecarga de lactato por 24h inibiu vias miogênicas através da ativação do AMPK e supressão do Akt, diminuindo os níveis de fatores miogênicos (MyoD e miogenina) e elevando os níveis do fator atrófico MAFbx. Ohno Y. et al. (2019) conclui seu estudo dizendo que a administração oral de lactato está associada com a hipertrofia e regeneração do músculo dos ratos e lactato extracelular pode contribuir para a regulação da plasticidade do músculo esquelético.

Dos oito estudos incluídos nesta revisão seis (ACHARYA et al., 2017; OH et al., 2019; OHNO et al., 2019; OISHI et al., 2015; TSUKAMOTO et al., 2018b; WILLKOMM et al., 2017) observaram a atuação do lactato para marcadores de regeneração muscular e um (BARJOT et al., 1998) focalizou apenas em como se dá a diferenciação e proliferação de novas fibras musculares, enquanto outro

(WASHINGTON et al., 2013) observou o aparecimento de transportadores de lactato.

Willkomm utilizou 2 tipos de soluções em suas amostras de células uma chamada de solução de Proliferação (PM) e uma solução de Diferenciação (DM):

DM = 1% penicillin/streptomycin, 4 mM glutamine, 1.5 g/L sodium bicarbonate, 1 mM sodium pyruvate, and 4% horse serum

PM = 1% penicillin-streptomycin, 4 mM glutamine, 1.5 g/L sodium bicarbonate, 1 mM sodium pyruvate, and 20% fetal calf serum.

A tabela 3 demonstra as comparações entre os resultados obtidos nos estudos e as diferenças na metodologia em relação aos MRFs:

TABELA 3: LACTATO E MRFs

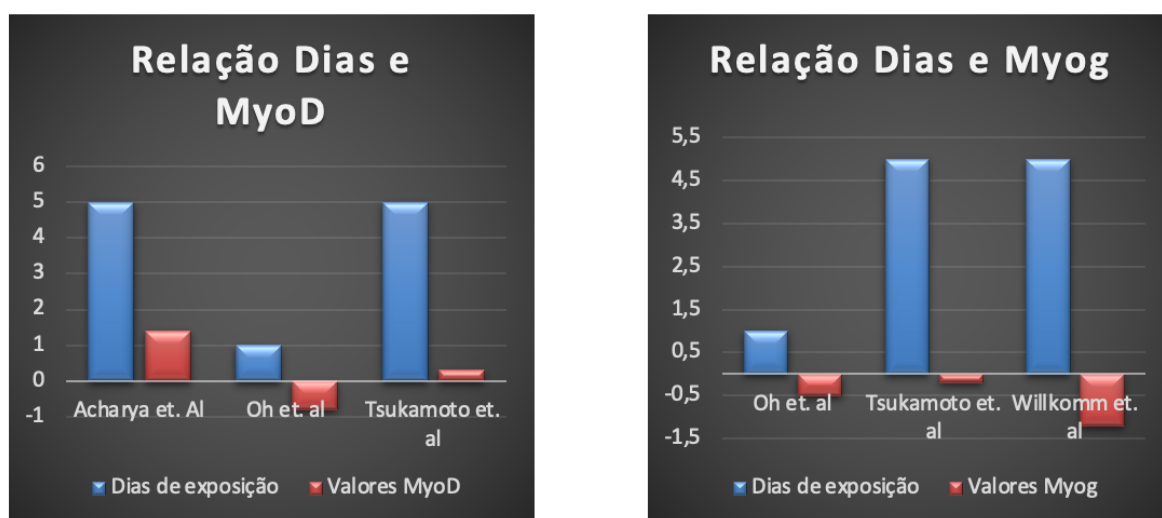
Estudo	[] de lactato (mM)	Dias de exposição	Razão	OBS	Valores
Acharya et. Al	20	5	MRF / β -Actina	β -Actina, proteína de formação do músculo	MyoD = +0,7 (só com LA) ou +1,4 (LA + MF50)
Barjot et. al	N/A	7	MRF / S26	S26, proteína ribossomal	Myf5 = -4,0; MyoD = -3,5; Myog = -0,4; Myf6 = +3,0 LDH = +1,0; LDHactivity = +1,8
Oh et. al	8	1	MRF / α -Actina	α -Actina, proteína de formação do músculo	MyoD = -0,8; Myog = -0,5
Tsukamoto et. al	10	5	MRF / β -Actina	β -Actina, proteína de formação do músculo	MyoD = +0,3; Myog = -0,2; MHC = +0,2
Ohno et. al	20	5	-/-	Não avalia MRFs	N/A
Oishi et. al	10	6 horas	Valores Arbitrários	Foi medido a variação	MyoD = +0,4 (LC) ou +0,2 (LA); Myog = +0,2 (LC) ou +0,3 (LA)
Washington et. al	N/A	3	MRF/18s mRNA Abundance	18s mRNA, RNA ribossomal	MyoD = +2,5 LDH-A = +0,7 ; LDH-B = -0,5
Willkomm et. al	20	5	<i>x-fold increase</i>	Foi medido a variação	Myf5 = -0,30; Myog = -1,2; MHC1 = -1,0; MHC2 = -1,1

Nota: [] = concentração; OBS = observação, MRFs = *myogenic regulatory factors*, LDH = lactato desidrogenase, LA = lactato, LC = lactato + cafeína, MF50 = maniflavona 50mM

Fonte: O Autor (2021)

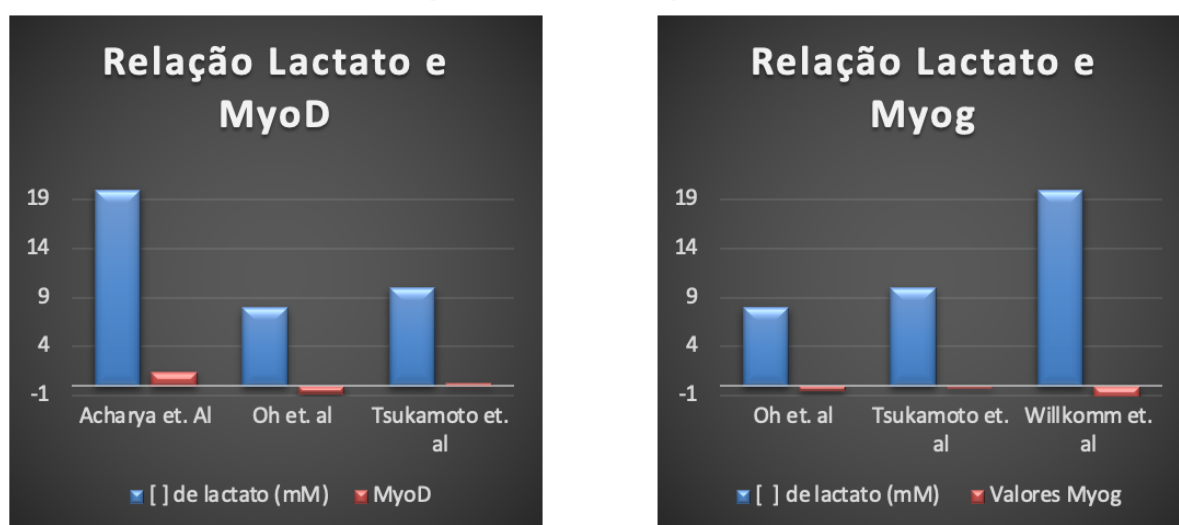
Como forma de ilustrar as várias diferenças metodológicas ressaltadas na tabela 3, os gráficos 2 e 3 foram gerados. Alguns aspectos metodológicos tiveram de ser ignorados para que se agrupassem estudos relacionando apenas dias de exposição e concentração de lactato com os MRFs (e no caso dos gráficos foram escolhidos apenas a proteína MyoD e a Miogenina, haja visto que foram as proteínas que mais apareceram nos estudos). O estudo de Oishi (2016) foi retirado dessa ilustração pelo fato de o tempo de exposição do estudo ser inferior a um dia (no caso a amostra ficou exposta por apenas 6 horas ao lactato).

GRÁFICO 2: RELAÇÃO DIAS DE EXPOSIÇÃO E MRFS



Fonte: O Autor (2021)

GRÁFICO 3: RELAÇÃO CONCENTRAÇÃO DE LACTATO E MRFS



Fonte: O Autor (2021)

5 DISCUSSÃO

A presente revisão sistemática objetivou buscar artigos científicos que analisassem a relação entre o lactato e a recuperação muscular, que resultou na seleção de oito estudos com amostras *in-vitro* e modelos animais, os quais demonstraram a função do lactato como molécula sinalizadora para processos que induzem a regeneração e proliferação de fibras musculares. Portanto, a seguir serão discutidas as características dos estudos selecionados e os principais resultados encontrados quanto à regeneração muscular.

Os seis estudos que testaram o lactato como promotor da regeneração muscular utilizaram diferentes concentrações e tempos de exposição, fator que dificulta a comparação dos resultados das pesquisas sobre o tema. Destacam-se diferenças na condução dos estudos que podem ter interferido nos desfechos, em que três pesquisas colocaram sua cultura de células exposta a uma solução de lactato de sódio a uma concentração de 20mM por cinco dias (ACHARYA et al., 2017; OHNO et al., 2019; WILLKOMM et al., 2017), um utilizou 10mM por cinco dias (TSUKAMOTO et al., 2018b), outro estudo usou 8mM por 24 horas (OH et al., 2019) e por fim, um estudo utilizou 10mM por 6 horas (OISHI et al., 2015).

Quanto à expressão de MRFs os resultados observados foram contraditórios. Enquanto cinco estudos (ACHARYA et al., 2017; OISHI et al., 2015; TSUKAMOTO et al., 2018b; WASHINGTON et al., 2013) encontraram aumento da expressão dessas proteínas (MyoD e miogenina), tendo um deles (OHNO et al., 2019) não declarado qual proteína apresentou tal resultado, dois estudos (OH et al., 2019; WILLKOMM et al., 2017) perceberam diminuição (MyoD, miogenina e Myf5), e por fim um estudo (BARJOT et al., 1998) notou que durante os primeiros sete dias da cultura de células musculares embrionárias os MRFs (MyoD, Myf5 e miogenina) se mostraram elevados no dia um e decresceram de forma constante até o dia sete (se elevando no período de proliferação e decrescendo nos períodos de diferenciação e maturação dos miotubos). Por outro lado, o MRF4 se mostrou baixo no dia um e foi aumentando até o dia sete, ao mesmo tempo que houve aumento linear da expressão da LDH durante a proliferação e diferenciação dos mioblastos. Cabe ressaltar aqui que o estudo de Washington et al. (2013) observou aumento da LDH-A (converte piruvato em lactato) em 71% e a LDH-B (converte lactato em piruvato) diminuiu 53%.

Como exposto na Tabela 3, as divergências na metodologia dos estudos selecionados dificultam a comparação dos resultados obtidos. As concentrações de lactato utilizadas, os tempos de exposição e as normalizações feitas com proteínas distintas tornam ineficazes a comparação direta de resultados obtidos em números. Respeitando as individualidades de cada estudo, dois estudos podem ser emparelhados nesse quesito (ACHARYA et al., 2017; TSUKAMOTO et al., 2018a), pois o tempo de exposição – 5 dias, e a normalização feita para medir a variação – MRF / β -Actina, foram as mesmas. Ainda que as concentrações de lactato utilizadas tenham sido diferentes, é possível comparar os resultados obtidos, pois enquanto Acharya (2017), usou 20 mM de lactato e obteve aumento na proteína MyoD de +0,7, Tsukamoto usou 10mM de lactato e obteve aumento na mesma proteína MyoD de +0,3. Ou seja, utilizando a metade da concentração de lactato, Tsukamoto *et al.* (2018) obteve metade do aumento da proteína MyoD em seus resultados. Estes resultados sugerem que a resposta é dependente e diretamente relacionada à quantidade de lactato utilizada nos experimentos.

Outras comparações se tornam inviáveis, pois as metodologias dos estudos são muito distintas entre si. Principalmente as proteínas utilizadas para normalização foram proteínas distintas, e com isso a razão de proliferação dessas proteínas diferentes torna a comparação ineficiente, pois não é possível garantir que a taxa de reprodução dessas proteínas é similar. Dois estudos – que até puderam ser comparados - como citados acima utilizaram a proteína β -Actina para medir a variação de MRFs (ACHARYA et al., 2017; TSUKAMOTO et al., 2018a), dois mediram os níveis de MRFs antes e depois (OISHI et al., 2015; WILLKOMM et al., 2017), um estudo usou a proteína α -Actina (OH et al., 2019), um utilizou a proteína ribossomal S26 (BARJOT et al., 1998), um utilizou a proteína ribossomal 18s (WASHINGTON et al., 2013) e por fim um estudo não avaliou a expressão de MRFs, avaliando apenas o peso do músculo e a área das miofibrilas (OHNO et al., 2019).

As diferentes metodologias dos estudos foram destacadas nos Gráficos 2 e 3, nos quais é possível observar, ainda que respeitadas as devidas extrapolações já citadas, a relação do tempo de exposição das células em dias com o aparecimento dos MRFs, MyoD e Miogenina e também a relação das concentrações de lactato com o aparecimento dessas proteínas. Cabe ressaltar que a proteína MyoD está relacionada com a proliferação dos mioblastos enquanto a Miogenina está ligada à diferenciação destas células (ENGERT; BERGLUND; ROSENTHAL, 1996;

HERNÁNDEZ-HERNÁNDEZ et al., 2017). Ao se observar os gráficos fica nítida a dificuldade de se estabelecer uma relação de causalidade entre a presença do lactato e a regeneração muscular, isso devido à falta de padrão na metodologia dos estudos incluídos nesta revisão.

Outro problema identificado nesta revisão foi o foco dos estudos selecionados. Ainda que apresentem resultados relacionados com a regeneração muscular, o objetivo principal dos estudos não eram realmente avaliar o lactato como promotor dessa regeneração. Um estudo objetivava mostrar a maniflavona como uma substância mais viável que o ácido ascórbico como antioxidante celular (ACHARYA et al., 2017), outro estudo buscava mostrar como o se dava o desenvolvimento muscular de fetos de coelhos (BARJOT et al., 1998), um se debruçou sobre a expressão de transportadores de monocarboxilatos na regeneração muscular (WASHINGTON et al., 2013), um teve seu foco na combinação de cafeína mais lactato aumentando a atividade de células satélites musculares (OISHI et al., 2015), dois de fato buscaram apresentar o lactato como promotor da regeneração muscular (OHNO et al., 2019; TSUKAMOTO et al., 2018a) e outros dois estudos tentaram apresentar o lactato como inibidor ou um empecilho à regeneração do músculo (OH et al., 2019; WILLKOMM et al., 2017).

Um estudo recente propõe nova abordagem para a regeneração muscular (REDDY et al., 2020), o qual o foco está sobre o succinato. Nesse estudo, o autor apresenta um modelo no qual o exercício diminuiria o pH intracelular durante a produção do lactato. Essa diminuição possibilitaria a protonação do succinato transformando a molécula de um dicarboxilato para um monocarboxilato, o que permite que essa molécula seja exportada por meio dos receptores de monocarboxilato (MCT1 e MCT4). Dessa forma, na matriz extracelular o succinato se ligaria em células não-musculares no seu receptor SUCNR1 (um receptor acoplado à proteína G), que ativa vias estudadas de remodelação celular como PKA e MAPK. Por meio dessa ativação o succinato seria responsável por atuar na reestruturação neuronal e do interstício da célula muscular.

Outro fator que não pode ser descartado é o efeito em paralelo que ocorre à essa ativação, pois a diminuição do pH intracelular acontece ao mesmo tempo em que o lactato se acumula na célula, e como visto nessa revisão, o acúmulo de lactato está associado a maior expressão de MRFs (ACHARYA et al., 2017; OISHI et

al., 2015; TSUKAMOTO et al., 2018b; WASHINGTON et al., 2013), que são responsáveis por outras vias de miogênese.

Ainda que Brooks (2020) tenha proposto o lactato com protagonista de inúmeras funções no metabolismo humano, o autor não o incluiu como possível promotor da regeneração muscular, um tema ainda ser abordado. Os estudos realizados até a presente revisão ainda não conseguem demonstrar esse protagonismo. Falta apresentar o que Reddy et al. (2020), apresentou para o succinato em seu estudo, a conexão direta de como a molécula de lactato ativaria vias que levassem a proliferação e diferenciação dos mioblastos.

No quesito do uso clínico do lactato, ou seja, para o tratamento de doenças relacionadas com degeneração muscular como as distrofias, o mecanismo pelo qual o lactato pode ser alternativa de tratamento ainda precisa ser mais testado. Ainda que alguns resultados no tamanho e peso das fibras (e com isso no peso do músculo em si) possa indicar uma via de ação (OHNO et al., 2019), cuja administração oral do lactato somado ao estímulo do exercício apresentaram resultados positivos, é preciso testar se a correlação da presença do lactato no músculo estimulou a miogênese via aumento de folistatina, via aumento de MRFs ou se existe alguma outra molécula participando desse processo. Explicar essa relação serviria também para explicar o motivo de resultados positivos para hipertrofia muscular em treinos com oclusão vascular, em que a restrição de oxigênio no músculo aumenta a concentração local de lactato e aprisionam o lactato por mais tempo no músculo (ASFOUR; ALLOUH; SAID, 2018; OHNO et al., 2019).

Como limitações do presente estudo, até o momento, tem-se apenas a correlação entre a presença do lactato e a expressão dos fatores regulatórios miogênicos. Ainda não é possível estabelecer se essa correlação é positiva ou negativa, muito menos se é correlação forte ou fraca em seres humanos, apenas foi possível observar que a presença do lactato em experimentos com células e em alguns modelos animais altera a forma como essas moléculas são expressas.

Para estudos futuros, é crucial que seja adotada uma metodologia similar para que os resultados possam ser comparados de forma eficiente e que o objetivo principal do estudo seja avaliar o lactato como o promotor da regeneração muscular. Além disso, uma explicação fisiológica ligando a molécula do lactato à proliferação/diferenciação de mioblastos precisa ser traçado, ainda que de forma hipotética. Tendo como ponto de partida o estudo de Reddy et al., (2020), é preciso

determinar se o lactato tem o protagonismo na ativação dos mioblastos ou se é apenas uma molécula marcadora de estresse celular (no contexto da regeneração muscular) e outras moléculas do nosso metabolismo seriam as que verdadeiramente ativam o processo de regeneração muscular, sendo o lactato apenas um indicador e não o promotor.

Por fim, a observação dos resultados obtidos e as comparações entre os estudos, ainda que respeitando suas diferenças metodológicas, é notável a presença de um elemento em comum entre eles, o lactato. Nessa molécula pode estar a resposta para algumas das perguntas que surgem a respeito de como o exercício promove a regeneração muscular, haja vista que sua presença em modelos animais e *in-vitro* esteve relacionada ao aparecimento de moléculas que agem sobre a miogênese (ACHARYA et al., 2017; OHNO et al., 2019; OISHI et al., 2015; TSUKAMOTO et al., 2018b).

6 CONCLUSÃO

O lactato ainda que de forma incipiente, apresenta-se como uma parte do processo de regeneração muscular. Esta revisão mostrou que por mais que os estudos ainda tenham muitas diferenças metodológicas, o lactato pode ser uma molécula que está participando do processo de miogênese, pois a sua presença nas células musculares está relacionada com o aparecimento de outras proteínas que estão intrinsecamente relacionadas com a proliferação e diferenciação dos mioblastos. Porém, é necessário que mais estudos sejam feitos abordando o tema, testar novas hipóteses e estabelecer novos princípios para se entender este processo.

A relação do aparecimento do lactato no interior de mioblastos e a expressão de moléculas reguladoras do processo de regeneração muscular pode ainda não ser um processo de causalidade, contudo, talvez exista a correlação entre ambos que precisa ser testada. Além disso, é preciso observar se existe relação do lactato com outros metabólitos do nosso metabolismo que se relacionam com outras vias pelas quais o músculo se recupera do estresse que foi imposto sobre ele.

Diante de tudo que foi apresentado no trabalho, o lactato se mostrou como uma molécula que é mais do que apenas um combustível para manutenção do exercício, entretanto a sua relação com a regeneração muscular ainda necessita de estudos mais profundos. Há necessidade de mais estudos para analisar a relação do lactato com os MRFs ou com a folistatina muscular, moléculas que são comprovadamente responsáveis pela miogênese. Portanto, mesmo que haja sugestões de possível correlação, fazem-se necessárias mais pesquisas relacionando o lactato a essas moléculas, porque tudo que se tem até o presente momento é uma observação de que a presença do lactato no músculo aumenta a concentração de alguns MRFs.

REFERÊNCIAS

- ACHARYA, S. et al. (2R,3S,2''R,3''R)-Manniflavanone Protects Proliferating Skeletal Muscle Cells against Oxidative Stress and Stimulates Myotube Formation. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 65, n. 18, p. 3636–3646, 2017.
- ASFOUR, H. A.; ALLOUH, M. Z.; SAID, R. S. Myogenic regulatory factors: The orchestrators of myogenesis after 30 years of discovery. **Experimental Biology and Medicine**, v. 243, n. 2, p. 118–128, 2018.
- BARJOT, C. et al. Expression of lactate dehydrogenase, myosin heavy chain and myogenic regulatory factor genes in rabbit embryonic muscle cell cultures. **Journal of Muscle Research and Cell Motility**, v. 19, n. 4, p. 343–351, 1998.
- BROOKS, G. A. Anaerobic threshold: review of the concept and directions for future research. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 17, n. 5, p. 621–624, 1985.
- BROOKS, G. A. Lactate as a fulcrum of metabolism. **Redox Biology**, n. February, p. 101454, 2020.
- CONLEY, K. E.; LINDSTEDT, S. L. Energy-saving mechanisms in muscle: The minimization strategy. **Journal of Experimental Biology**, v. 205, n. 15, p. 2175–2181, 2002.
- CONNETT, R. J.; GAYESKI, T. E. J.; HONIG, C. R. Lactate efflux is unrelated to intracellular P(O₂) in a working red muscle in situ. **Journal of Applied Physiology**, v. 61, n. 2, p. 402–408, 1986.
- CORI, C. F.; CORI, G. T. GLYCOGEN FORMATION IN THE LIVER FROM d- AND l-LACTIC ACID. **Journal of Biological Chemistry**, v. 81, n. 2, p. 389–403, 1929.
- DAVIS, J. **Anaerobic threshold: review of the concept and directions for future research.** **Medicine and Science in Sports and Exercise**, 1985.
- ENGERT, J. C.; BERGLUND, E. B.; ROSENTHAL, N. Proliferation precedes differentiation in IGF-I-stimulated myogenesis. **Journal of Cell Biology**, v. 135, n. 2, p. 431–440, 1996.
- FLETCHER, W. M.; HOPKINS, G. LACTIC ACID IN AMPHIBIAN MUSCLE. **From the Physiological Laboratory, Cambridge.**, 1907.
- FRAWLEY, K. et al. Effects of Prior Fasting on Fat Oxidation during Resistance Exercise. **International journal of exercise science**, v. 11, n. 2, p. 827–833, 2018.
- HASHIMOTO, T. et al. Maintained exercise-enhanced brain executive function related to cerebral lactate metabolism in men. **FASEB Journal**, v. 32, n. 3, p. 1417–1427, 2018.
- HERNÁNDEZ-HERNÁNDEZ, J. M. et al. The myogenic regulatory factors,

determinants of muscle development, cell identity and regeneration. **Seminars in Cell and Developmental Biology**, v. 72, p. 10–18, 2017.

HIGGINS, C. Lactate and lactic acidosis. **Radiometer Medicall ApS**, n. October, p. 8, 2007.

HIGGINS, C. L-lactate and D-lactate -clinical significance of the difference. **Acute Care Testing.Org**, n. October, p. 1–6, 2011.

JOANISSE, S. et al. Evidence for the contribution of muscle stem cells to nonhypertrophic skeletal muscle remodeling in humans. **FASEB Journal**, v. 27, n. 11, p. 4596–4605, 2013.

KEMPER, W. F. et al. Shaking up glycolysis: Sustained, high lactate flux during aerobic rattling. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 98, n. 2, p. 723–728, 2001.

KIM, Y. IL. The impact of exercise training on basal bdnf in athletic adolescents. **Journal of Physical Therapy Science**, v. 28, n. 11, p. 3066–3069, 2016.

KOMPANJE, E. J. O. et al. The first demonstration of lactic acid in human blood in shock by Johann Joseph Scherer (1814 – 1869) in January 1843. p. 1967–1971, 2007.

LIU, W. et al. Hypoxia promotes satellite cell self-renewal and enhances the efficiency of myoblast transplantation. **Development (Cambridge)**, v. 139, n. 16, p. 2857–2865, 2012.

MACKEY, A. L. et al. Myogenic response of human skeletal muscle to 12 weeks of resistance training at light loading intensity. **Scandinavian Journal of Medicine and Science in Sports**, v. 21, n. 6, p. 773–782, 2011.

MCCARDLE, W. D.; KATCH, F. I.; KATCH, V. I. **Fisiologia do Exercício**. [s.l: s.n.]. v. 8 edição

NALBANDIAN, M.; TAKEDA, M. **Lactate as a signaling molecule that regulates exercise-induced adaptations****Biology**, 2016.

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de Bioquímica de Lehninger**. [s.l: s.n.].

NIELSEN, J. L. et al. Proliferation of myogenic stem cells in human skeletal muscle in response to low-load resistance training with blood flow restriction. **Journal of Physiology**, v. 590, n. 17, p. 4351–4361, 2012.

OH, MAN S., PHELPS, KENNETH R., TRAUBE, MORRIS, BARBOSA-SALDIVAR, JOSE L., BOXHILL, CARLTON, CARROLL, H. J. D-Lactic Acidosis in a Man with the Short-Bowel Syndrome. **New England Journal of Medicine**, v. 301, 1979.

OH, S. S. J. et al. Lactate overload inhibits myogenic activity in C2C12 myotubes. **Open Life Sciences**, v. 14, n. 1, p. 29–37, 2019.

OHNO, Y. et al. Lactate stimulates a potential for hypertrophy and regeneration of mouse skeletal muscle. **Nutrients**, v. 11, n. 4, p. 1–10, 2019.

OISHI, Y. et al. Mixed lactate and caffeine compound increases satellite cell activity and anabolic signals for muscle hypertrophy. **Journal of Applied Physiology**, v. 118, n. 6, p. 742–749, 2015.

OMLIN, T.; WEBER, J.-M. Exhausting exercise and tissue-specific expression of monocarboxylate transporters in rainbow trout. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 304, n. 11, p. R1036–R1043, 2013.

PETRELLA, J. K. et al. Potent myofiber hypertrophy during resistance training in humans is associated with satellite cell-mediated myonuclear addition: A cluster analysis. **Journal of Applied Physiology**, v. 104, n. 6, p. 1736–1742, 2008.

PHILP, A.; MACDONALD, A. L.; WATT, P. W. **Lactate - A signal coordinating cell and systemic function** *Journal of Experimental Biology*, 2005.

REDDY, A. et al. pH-Gated Succinate Secretion Regulates Muscle Remodeling in Response to Exercise. **Cell**, v. 183, n. 1, p. 62–75.e17, 2020.

RELAIX, F. et al. Pax3 and Pax7 have distinct and overlapping functions in adult muscle progenitor cells. **Journal of Cell Biology**, v. 172, n. 1, p. 91–102, 2006.

RICHARDSON, R. S. et al. Lactate efflux from exercising human skeletal muscle: Role of intracellular Po₂. **Journal of Applied Physiology**, v. 85, n. 2, p. 627–634, 1998.

SCHIBLI, S. D-lactic Acidosis: Successful Suppression of D-lactate – Producing Lactobacillus by Probiotics. v. 142, n. 3, 2018.

TAKAHASHI, K. et al. A stand-alone synbiotic treatment for the prevention of D-lactic acidosis in short bowel syndrome. **International Surgery**, v. 98, n. 2, p. 110–113, 2013.

TSUKAMOTO, S. et al. **Lactate promotes myoblast differentiation and myotube hypertrophy via a pathway involving MyoD in vitro and enhances muscle regeneration in vivo** *International Journal of Molecular Sciences*, 2018a.

TSUKAMOTO, S. et al. Lactate Promotes Myoblast Differentiation and Myotube Hypertrophy via a Pathway Involving MyoD In Vitro and Enhances Muscle Regeneration In Vivo. **International Journal of Molecular Sciences**, 2018b.

VIERCK, J. et al. Satellite cell regulation following myotrauma caused by resistance exercise. **Cell Biology International**, v. 24, n. 5, p. 263–272, 2000.

WASHINGTON, T. A. et al. Monocarboxylate transporter expression at the onset of skeletal muscle regeneration. **Physiological Reports**, v. 1, n. 4, p. 1–11, 2013.

WILLKOMM, L. et al. P38 MAPK activation and H3K4 trimethylation is decreased by lactate in vitro and high intensity resistance training in human skeletal muscle. **PLoS ONE**, v. 12, n. 5, p. 1–16, 2017.

ZAMMIT, P. S. Function of the myogenic regulatory factors Myf5, MyoD, Myogenin and MRF4 in skeletal muscle, satellite cells and regenerative myogenesis. **Seminars in Cell and Developmental Biology**, v. 72, p. 19–32, 2017.