

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ACRE
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
MESTRADO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE NA AMAZÔNIA OCIDENTAL**

**VARIAÇÕES BIOQUÍMICAS E DA ESTABILIDADE DE MEMBRANA
ERITROCITARIA APÓS TREINO AGUDO RESISTIDO.**

IGOR SOMBRA SILVA

RIO BRANCO - AC

2016

MESTRADO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE NA AMAZÔNIA OCIDENTAL

**VARIAÇÕES BIOQUÍMICAS E DA ESTABILIDADE DE MEMBRANA
ERITROCITARIA APÓS TREINO AGUDO RESISTIDO.**

IGOR SOMBRA SILVA

Orientador: Prof. Dr. Romeu Paulo Martins Silva

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Acre como
parte dos requisitos para obtenção do
Título de Mestre em Ciências da Saúde
na Amazônia Ocidental.

RIO BRANCO - AC

2016

FICHA CATALOGRÁFICA

Sobrenome, nome, ano nascimento -

- Rio Branco: Ano da Defesa

Nº total de folhas; Nº total de fotos

Nome do Orientador

Dissertação de Mestrado (ou Doutorado) Universidade Federal de Acre. Coordenação de Pós-Graduação em Ciências da Saúde na Amazônia Ocidental.

Inclui Bibliografia

Palavra chave - Teses. 2. Palavra chave - Teses. 3. Palavra Chave - Teses. 1. Universidade Federal do Acre. Coordenação de Pós-Graduação em Genética Ciências da Saúde na Amazônia Ocidental.

PALAVRAS-CHAVE: exercício agudo, eritrócitos, creatina quinase, estabilidade osmótica.

A ficha será confeccionada pelo Setor da Biblioteca

MESTRADO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE NA AMAZÔNIA OCIDENTAL

**VARIAÇÕES BIOQUÍMICAS E DA ESTABILIDADE DE MEMBRANA
ERITROCITARIA APÓS TREINO AGUDO RESISTIDO.**

Aluno: IGOR SOMBRA SILVA

COMISSÃO EXAMINADORA

Presidente: Prof. Dr. Romeu Paulo Martins Silva (Orientador)
Universidade Federal do Acre - UFAC

Examinadores:

Prof. Dr. Luiz Carlos de Abreu
Faculdade de Medicina do ABC

Prof. Dr. Fernando Luiz Affonso Fonseca
Faculdade de Medicina do ABC

Suplente:

Prof. Dr. Dionatas Ulises de Oliveira Meneguetti
Universidade Federal do Acre - UFAC

RIO BRANCO

Data da Defesa: ____/____/____

As sugestões da Comissão Examinadora e as Normas MECs para o formato da Dissertação foram contempladas

Prof. Dr. Romeu Paulo Martins Silva

DEDICATÓRIA

A DEUS e a minha FAMÍLIA, por sempre terem apoiado essa minha caminhada no Acre e acreditado em mim. A cada conquista lembro de vocês.

AGRADECIMENTOS

A **DEUS** em primeiro lugar.

Ao meu pai **Cesar**, por sempre não medir esforços para permitir minhas conquistas.

A minha mãe **Vicência**, obrigada por todo o apoio, dedicação, compreensão e amor

A minha irmã **Vanessa** por todo o apoio incondicional.

Aos **amigos e amigas** de minha terra natal(Fortaleza) e também aos grandes amigos que fiz aqui no Acre.

Ao meu orientador **Prof. Dr. Romeu Paulo** por ter me aceitado como orientando e ser um grande amigo.

Ao **Prof. Dr.Mario da Silva** pelo auxílio na execução da análise estatística.

A **Ana Caroline** Secretária do Programa de Ciências da Saúde na Amazônia Ocidental pelo auxílio e por sempre ser muito solícita as questões administrativas.

“Talvez não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para que o melhor fosse feito. Não sou o que deveria ser, mas Graças a Deus, não sou o que era antes”.

Martin Luther King

Sumário

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	9
I. APRESENTAÇÃO	10
II. INTRODUÇÃO	11
III. OBJETIVO GERAL	20
III.1 Objetivos específicos.....	20
IV. ARTIGO CIENTÍFICO	21
V. ARTIGO CIENTIFICO 2	39
VI. CONSIDERAÇÕES FINAIS	66
VII. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	67
VII. ANEXOS	71
VII.1 Carta de Aceite	71

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

IMC	Índice de Massa Corpórea
Hb	Hemoglobina
CO ²	Dióxido de carbono
Na ⁺	Sódio
Ca ²⁺	Cálcio
K ⁺	Potássio
Cl ⁻	Cloro
HCO ³⁻	Bicabornato
PO ₄ ³⁻	Fosfato
ATP	Adenina Trifosfato
NaCl	Cloro de sódio
FO	Fragilidade osmótica
CK-NAC	Creatina quinase total
CK-MB	Isoenzima miocárdica da creatina quinase
LDH	Lactato desidrogenase
AST	Aspartato aminotransferase
ALT	Alanina aminotransferase

I. APRESENTAÇÃO

A realização de exercício físico promove grandes alterações fisiológicas e metabólicas tanto a curto (agudas) quanto em longo prazo (crônicas). Dentre estas alterações estão modificações na reologia do sangue, inclusive nas células vermelhas e nas concentrações enzimáticas de creatina quinase total (CK-NAC), isoenzima miocárdica da creatina quinase (CK-MB), lactato desidrogenase (LDH), aspartato aminotransferase e (AST) alanina aminotransferase (ALT).

Estudar o efeito do exercício nessas células é muito importante, uma vez que, são os eritrócitos as células responsáveis pelo transporte e entrega de oxigênio aos músculos em atividade. Para realizar adequadamente suas funções, a célula vermelha, principalmente sua membrana, possui propriedades específicas, tais como deformabilidade, fluidez e estabilidade. Assim sendo, investigar o efeito do exercício físico nas propriedades da membrana pode elucidar se o exercício é capaz de promover melhorias ou prejuízos na funcionalidade do eritrócito. É nesse sentido que o presente trabalho foi desenvolvido. O artigo 1 é uma revisão de literatura sobre a reologia sanguínea e suas alterações agudas e crônicas causadas pelo exercício físico. No artigo 2 foram avaliados os efeitos da sessão de treino resistido múltiplas series e circuito na estabilidade osmótica da membrana do eritrócito e nas variações bioquímicas. A investigação da estabilidade osmótica foi feita através do teste de fragilidade osmótica, padronizado no Laboratório de Biofísicoquímica (LABFIQ) do Instituto de Genética e Bioquímica da Universidade Federal de Uberlândia.

II. INTRODUÇÃO

O sangue é composto basicamente por células e plasma. O compartimento celular do sangue é muito complexo, pois é composto por vários tipos de células distintas, como células vermelhas, células da série branca e as plaquetas. Já o plasma é constituído por água, eletrólitos, metabólitos (uréia, glicose e aminoácidos), nutrientes, proteínas e hormônios, suspensos em uma solução salina complexa. Existem muitos íons no sangue, tais como, sódio (Na^+), cálcio (Ca^{2+}), potássio (K^+), cloreto (Cl^-), bicarbonato (HCO_3^-) e fosfato (PO_4^{3-}). A concentração de íons é altamente controlada, uma vez que alterações nessas concentrações podem ocasionar um desequilíbrio osmótico ou afetar o pH sanguíneo, o que prejudica a reologia do sangue e as propriedades mecânicas das células¹.

Os eritrócitos são discos bicôncavos enucleados compostos basicamente pela proteína hemoglobina (Hb) e revestidos por uma membrana plasmática². É uma célula bastante simples, pois perde as organelas durante sua diferenciação, o que limita seu tempo de vida ($\cong 120$ dias), pois são incapazes de reproduzir e reparar eficientemente os danos oxidativos causados a ela³.

A função primária dos eritrócitos é transportar os gases respiratórios ligados à hemoglobina (Hb). Nos pulmões, o oxigênio (O_2) se difunde pela barreira alveolar e se liga à Hb, formando a HbO_2 , em um processo denominado oxigenação. A Hb circula por todo o corpo, liberando O_2 para os tecidos e recolhendo dióxido de carbono (CO_2) produzido pelas células durante o metabolismo. O CO_2 é enzimaticamente convertido pela anidrase carbônica em HCO_3^- nos tecidos e nas células vermelhas para ser eliminado⁴. Sendo assim, além de transportar O_2 , a Hb dos RBC atua na eliminação de CO_2 e prótons gerados pelo metabolismo tecidual^{5,6}. Além do transporte de gases, os eritrócitos recolhem metabólitos liberados na circulação, como por exemplo, o lactato, que é liberado pelo músculo esquelético durante o exercício físico intenso.

O substrato energético nos eritrócitos é a glicose. Sua fonte é exclusivamente extracelular, pois estas células não possuem a capacidade de armazená-la⁷. A entrada de glicose na célula ocorre por difusão facilitada através de transportadores específicos de alta afinidade, os GLUT-1⁸. Dentro dos eritrócitos, a glicose é

degradada pela via glicolítica de *Embden-Meyerhof* ou glicólise anaeróbia, com a finalidade de produzir adenosina trifosfato (ATP)⁵.

As membranas das células eucariotas seguem o modelo do mosaico fluído, proposto por Singer e Nicolson. Nesse modelo, a membrana das células é constituída por uma bicamada de lipídios em que proteínas e glicoproteínas estão interligadas. Cerca de 52% da massa da membrana é composta por proteínas, 40% de lipídios e 8% de carboidratos⁹.

No caso da membrana dos eritrócitos, é o colesterol que tem uma função importante. Trata-se de uma estrutura anfipática com um grupo cabeça polar e um corpo hidrocarbonado não polar. Este componente é encontrado predominantemente na face externa da monocamada da membrana¹⁰. Em quantidades adequadas, o colesterol atua como um modulador de várias funções na membrana, tais como, transporte, trocas iônicas, além de regular a ação de receptores e da ação de enzimas na membrana. O colesterol é que confere às camadas lipídicas maior espessura e rigidez, uma vez que sua parte hidrofóbica contribui para o aumento da afinidade entre os fosfolipídios¹¹.

Outras funções do colesterol na membrana estão relacionadas com as propriedades de permeabilidade, estabilidade e de fluidez. Para a manutenção dessas propriedades é preciso haver certa proporção de fosfolipídios em relação a colesterol na membrana. Um aumento dos níveis de colesterol no meio afeta sua proporção na membrana, e esse aumento está diretamente correlacionado a uma redução da fluidez e da permeabilidade e aumento da rigidez da membrana, devido ao núcleo rígido do anel esteróide, o qual diminui a liberdade de rotação das ligações carbono-carbono⁸.

As proteínas da membrana plasmática se dispõem de duas formas: mergulhadas na bicamada (proteínas intrínsecas ou integrais) ou associadas à superfície interna ou externa da bicamada (proteínas extrínsecas ou periféricas)^{12,13}. As proteínas integrais estão fortemente ligadas à membrana por meio de interações hidrofóbicas entre os lipídios na bicamada e os domínios hidrofóbicos dessas proteínas. Elas possuem relevância direta na integridade estrutural da membrana, pois se ligam através de seus domínios citoplasmáticos a proteínas presentes no citoesqueleto¹⁴.

Existem também associadas à membrana as proteínas periféricas, que estão localizadas na superfície citoplasmática da bicamada lipídica e podem ser facilmente liberadas da membrana através de uma simples manipulação de força iônica do meio, pois só se associam à membrana por meio de interações eletrostáticas ou pontes de hidrogênio que estabelecem com domínios hidrofílicos das proteínas integrais e com os grupos polares da cabeça dos lipídios de membrana¹⁵. As proteínas periféricas incluem espectrina, actina e proteína 4.1R, constituintes do citoesqueleto da membrana⁹. O citoesqueleto é uma rede de proteínas que são responsáveis pela integridade e elasticidade da membrana^{16,17}. Controla o tamanho, a forma, a flexibilidade e a durabilidade da membrana do eritrócito, como também as interações célula-célula e a fusão da membrana. Qualquer alteração nesse complexo modifica profundamente a morfologia do eritrócito e causa a fragmentação da membrana em pequenas vesículas¹⁸.

A ligação entre a bicamada e o citoesqueleto é essencial para a membrana plasmática ser capaz de sofrer os rearranjos conformacionais para a célula realizar suas funções, essa propriedade é a deformabilidade¹⁹. O formato e a organização estrutural das membranas dos eritrócitos são responsáveis pela habilidade dessas células de passar por longas deformações reversíveis durante sua vida útil na circulação e se manterem estruturalmente íntegras. A membrana dessa célula é altamente elástica, responde rapidamente as tensões aplicadas e é capaz de se estender amplamente sem se fragmentar. As características peculiares da membrana são consequência direta da sua composição estrutural e de interações que ocorrem entre a estrutura da bicamada e a rede do citoesqueleto¹⁴.

Uma propriedade essencial para os eritrócitos exercerem sua função primária de entrega de O_2 é a deformabilidade. Essa propriedade está relacionada com a habilidade da célula mudar sua forma em resposta a uma tensão. A deformação dos eritrócitos envolve mudanças na curvatura, uma deformação uniaxial, ou na área de expansão²⁰. A tensão de deformação pode ser aplicada dentro ou fora da célula, sendo que a extensão, o nível e a forma de deformação dependem da magnitude, frequência e da direção do stress aplicado¹⁹. A deformabilidade determina a extensão da alteração da membrana. Quanto maior a deformabilidade menor será a tensão aplicada na célula para permitir a sua passagem entre os capilares de diâmetro muito menor do que as dimensões celulares¹⁷.

A deformabilidade também é influenciada pelas características reológicas dos fluidos intracelulares. Essas propriedades são relacionadas às propriedades físico-químicas, medidas através da viscosidade do fluido intracelular, e pela concentração de hemoglobina, medida pela concentração de hemoglobina corpuscular média (MCHC). Quanto maior a viscosidade da célula, menor será sua deformabilidade^{16,17}. A perda de água pela célula é a causa mais comum do aumento da viscosidade. O maior regulador do conteúdo de água intracelular é o potássio. Situações que promovem o efluxo deste cátion afetam diretamente a viscosidade da célula, causando desidratação. A concentração de K⁺ pode estar baixa nos eritrócitos em algumas circunstâncias como anemia falciforme, estresse mecânico e estresse oxidativo²¹.

Para realizar suas funções de troca, transporte e recepção de sinais, as membranas celulares devem ter um nível adequado de fluidez. Essa é outra propriedade dos eritrócitos, relacionada com a capacidade de mobilidade dos lipídios dentro do núcleo hidrofóbico da membrana. Assim sendo, a fluidez da membrana é fortemente influenciada pela relação fosfolipídios x colesterol^{22,23,24}. Além de deformáveis e fluídos, os eritrócitos devem resistir à fragmentação. Para isso ocorra, a membrana dessas células contém outra importante propriedade, que é a estabilidade. Uma célula é estável quando é capaz de circular sem se fragmentar frente às tensões normais que ocorrem na circulação (estabilidade mecânica) ou ser capaz de resistir à expansão de volume em um meio hipotônico (estabilidade osmótica) ou sob a ação de agentes químicos (estabilidade química). Sendo assim, a estabilidade pode ser definida como a máxima medida da deformação de uma membrana que pode sofrer antes de sofrer lise. Uma redução anormal na estabilidade faz com que a célula sofra lise com maior facilidade¹⁷.

Os fatores já relatados, que determinam e influenciam as propriedades da membrana também afetam a estabilidade dos eritrócitos. Na verdade, a estrutura da membrana e suas propriedades são um processo integrado com todos os componentes agindo sinergicamente. Qualquer desequilíbrio causado por doenças, hiper ingestão de ácidos graxos insaturados ou saturados, defeitos genéticos e outros fatores que causam mudanças estruturais ou alterações intra- ou extracelulares no meio, irá afetar o estado estável da membrana dos eritrócitos, prejudicando assim sua funcionalidade no fluxo sanguíneo e perfusão tecidual²⁵.

Avaliação da estabilidade da membrana dos eritrócitos através do teste de fragilidade osmótica (FO)

A osmolaridade do plasma sanguíneo dos mamíferos é mantida entre 270-310 mosmol. As maiores substâncias que regulam essa propriedade são os cátions, como por exemplo, o sódio (136–145 mM) e o potássio (3.6–5.4 mM), e os anions, como o cloro e o hidrogenocarbonato²⁶. O grau de resistência dos eritrócitos à lise, ou seja, a estabilidade osmótica (EO) em função da diminuição da concentração de cloreto de sódio (NaCl) no meio é a base do teste de fragilidade osmótica (FO).

Experimentalmente, o teste de FO consiste em mensurar a intensidade da liberação de hemoglobina em solução produzida com eritrócitos suspensos em um meio hipotônico com diferentes concentrações de NaCl. O teste é baseado no monitoramento da liberação da Hb, quantificado por espectrofotometria a 540 nm. A magnitude da absorbância é proporcional à extensão da lise dos eritrócitos²⁶. Através do teste podemos gerar um gráfico da absorbância em relação à concentração de NaCl. Fazendo um ajuste no gráfico por regressão sigmoideal através da equação de Boltzmann é possível determinar os parâmetros para avaliar a fragilidade osmótica da membrana das células vermelhas (Figura 1)²⁷.

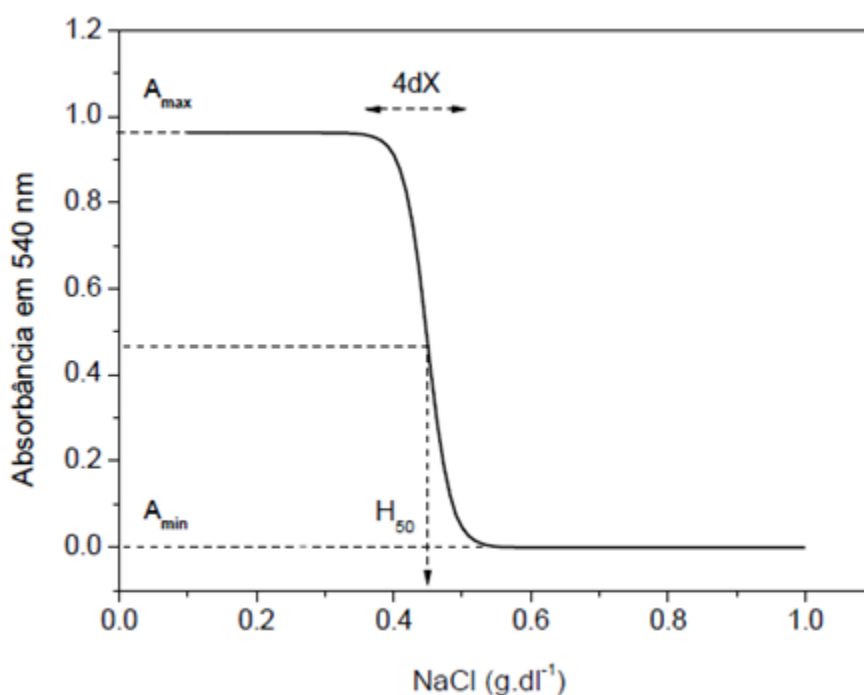


Figura 1: Curva típica de lise de eritrócitos por diminuição na concentração de NaCl ajustada por regressão sigmoide⁴⁷

São eles:

- H50: que é a concentração de NaCl que promove lise de 50% dos eritrócitos. Usualmente este parâmetro está relacionado à fragilidade osmótica, e como o objetivo do nosso estudo foi investigar a estabilidade osmótica, trabalhamos com a inversão deste parâmetro, ou seja, 1/H50.
- dX: que representa a variação da concentração de sal responsável pela transição de hemólise;
- A1 e A2, que representam o platô mínimo (A_{min}) e máximo (A_{máx}) da absorbância em 540 nm (A₅₄₀).

Existem inúmeras vantagens em usar este teste para avaliar a estabilidade nos eritrócitos, dentre elas simplicidade, confiabilidade e baixo custo. O teste de fragilidade osmótica é amplamente utilizado para elucidar a influência de diferentes fatores na propriedade osmótica de eritrócitos, tais como, tensão de cisalhamento, hemólise mecânica²⁸, doenças^{29,30,31}, idade^{32,27}, temperatura³³, uso de medicamentos, estresse oxidativo²⁶ e exercício físico³⁴.

Enzimas indicadoras de lesões

Existem várias enzimas que são consideradas como indicadoras de lesão tecidual, inclusive do tecido muscular. Pelo fato dos níveis teciduais dessas enzimas serem muito maiores do que encontrados no soro, quando ocorre lesão ou hemólise nos tecidos, há uma elevação significativa de suas concentrações no plasma. A realização de exercício físico é um fator que pode ocasionar aumento significativo das enzimas indicadoras de lesão muscular tais como a lactato desidrogenase (LDH) e a creatinaquinase (CK)^{35,36}.

A LDH é uma enzima da classe das oxidoredutases que catalisa a conversão reversível de lactato a piruvato. Ela está presente no citoplasma de todas as células do organismo, sendo abundante no miocárdio, no fígado, músculo esquelético, nos rins e nos eritrócitos. O valor de referência para a LDH no soro é de 95 a 225 U/l. A CK catalisa a conversão reversível de creatina em creatina fosfato, atuando na produção de energia para nos tecidos. A função predominante da enzima ocorre nas

células musculares, onde está envolvida no armazenamento de energia como creatina fosfato. Os valores de referência da CK são de 46 a 171 U/l para homens e 34 a 145 U/l em mulheres³⁷.

As enzimas aspartato aminotransferase (AST) e alanina aminotransferase(ALT) catalisam a transferência reversível dos grupos amino de um aminoácido para o acetoglutarato, formando cetoácido e ácido glutâmico. A ALT é encontrada especificamente no fígado e a AST é encontrada no miocárdio, fígado, músculo esquelético, com pequenas quantidades nos rins, pâncreas, baço, cérebro, pulmões e eritrócitos. Apresentando os seguintes valores de referência: AST: 5 a 34U/L e ALT: 6 a 37U/L.

Aspectos gerais sobre exercício físico

O exercício físico nada mais é do que a realização de trabalho muscular. O termo exercício físico é utilizado para definir a realização de trabalho muscular de forma planejada, estruturada e repetitiva, ou seja, controlando as variáveis: tempo, intensidade, volume, duração e frequência. O exercício físico pode ser classificado de diferentes maneiras que incluem: a intensidade, a via metabólica dominante, a mecânica muscular e o ritmo³⁸. A intensidade e o volume de treino são outras importantes variáveis que servem para classificar o exercício físico. Uma depende da outra, pois se o volume de exercício é alto a intensidade não pode ser alta também. Sendo assim, de maneira geral, tanto a intensidade quanto o volume podem classificados em alto, moderado e baixo (Tabela 1).

Tabela 1-Classificação da intensidade da atividade física

Intensidade	Exercício do tipo Resistido(%1RM*)
Muito leve	< 30
Leve	30 – 49
Moderado	50 – 69
Difícil	70 – 84
Muito Difícil	≥ 85
Máximo	100

* RM = repetição máxima, maior peso que pode ser movido uma única de vez de forma completa

Fonte: HOWLEY, 2001⁴⁸

Dentre as várias modalidades temos o treinamento resistido consiste em um método de treinamento que envolve a ação voluntária do músculo esquelético contra alguma forma externa de resistência, que pode ser provida pelo corpo, pesos livres ou máquinas³⁹. Dentre os vários tipos de métodos temos o treino múltiplas series e circuito.

O método múltiplas series utilizam-se mais de uma série por grupo muscular, e esse número depende do objetivo e do estado de treinamento do praticante. Não há regra exata sobre o número de séries, repetições ou exercícios. Essas variáveis serão ministradas conforme o tipo de treinamento, seja para aumento da massa muscular, resistência muscular, potência ou força máxima. Para aumentar o emagrecimento, pode-se aplicar o método de treinamento em circuito, alterando o volume do treinamento, aumentando a duração da sessão e ativando mais o sistema aeróbio, acarretando em um maior gasto energético durante o exercício, porém ainda dentro das características dos exercícios de força. Ele consiste em uma sequência de exercícios (estações) executado um após o outro, com um mínimo de descanso entre eles, podendo ser realizado nos aparelhos de musculação⁴⁰.

A realização de exercício físico de diferentes protocolos (intenso x moderado, curta x longa duração) frequentemente promove alterações hemorreológicas^{41,42,43}. Entende-se por hemorreologia o estudo do fluxo e dos componentes do sangue na micro- e na macrocirculação⁴⁴. Nesse ramo de pesquisa também ocorre à investigação dos fatores e das situações fisiológicas ou patológicas que influenciam o fluxo sanguíneo⁴⁵. Dentre estes fatores estão os elementos que constituem o sangue, a deformabilidade e as propriedades físicas do sangue e dos eritrócitos, tais como: viscosidade, rigidez e estabilidade. Há um crescente número de dados clínicos e experimentais indicando claramente que o comportamento do fluxo sanguíneo é o fator determinante para uma perfusão tecidual adequada⁴⁶.

Podemos dividir as alterações relativas ao exercício como agudas (curto prazo) e crônicas (longo prazo). As alterações agudas provocadas pelo exercício que acontecem em associação direta com a sessão de trabalho muscular podendo ser imediatas ou tardias. O efeito agudo imediato refere-se às alterações observadas imediatamente após a realização do exercício. Já as alterações agudas tardias são

as observadas ao longo das primeiras 24 horas que se seguem após uma sessão de exercício. As alterações crônicas, também denominadas ajustes fisiológicos, são aquelas que resultam da realização regular de exercício físico por um maior período de tempo, dado em meses ou anos⁴⁷.

III. OBJETIVO GERAL

Verificar o efeito do treinamento físico de múltiplas series e circuito nas variações enzimáticas e na estabilidade da membrana eritrocitária.

III.1 Objetivos específicos

- Analisar alterações das enzimas creatina quinase (CK), lactato desidrogenase (LDH), aspartato aminotransferase e (AST) alanina aminotransferase (ALT) antes e após treinamento múltiplas series e circuito.
- Avaliar a estabilidade da membrana dos eritrócitos através do teste de fragilidade osmótica antes e após treinamento múltiplas series e circuito.
- Verificar os efeitos fisiológicos e bioquímicos do eritrócito durante o exercício físico.

IV. ARTIGO CIENTÍFICO

Artigo de Revisão

REOLOGIA SANGUINEA E SUAS ALTERAÇÕES AGUDAS E CRÔNICAS CAUSADAS PELO EXERCÍCIO FÍSICO

Igor Sombra Silva¹, Laura Larissa Marques Evangelista², Romeu Paulo Martins
Silva³

¹Fisioterapeuta, Mestrando em Ciências da Saúde na Amazônia Ocidental da Universidade Federal do Acre – UFAC.

² Graduanda em Enfermagem da Faculdade Meta – FAMETA.

³Doutor em Genética e Bioquímica, Prof. Dr.º Universidade Federal do Acre – UFAC.

RESUMO

Vários processos e interações celulares são mediados através das membranas. Para funcionamento ideal, as membranas celulares devem ter estabilidade e funcionalidade, propriedades que dependem do seu grau de fluidez. Tanto a fluidez extrema como a insuficiente são características indesejáveis que afetam a fisiologia celular e podem contribuir para a perda de estabilidade e consequente aceleração da destruição da membrana, levando à destruição celular. Os eritrócitos são um bom modelo para estudar a estabilidade de membranas biológicas por sua conveniência, pois é fácil monitorar sua lise. O ambiente no qual os eritrócitos se encontram no sangue é um fator decisivo na determinação da composição e da fluidez da membrana celular. Esse ambiente pode ser alterado pela dieta, exercício e várias doenças. Entende-se por hemorreologia o estudo do fluxo e dos componentes do sangue na micro- e na macrocirculação. A prática regular de exercício físico promove adaptações hemorreológicas no sangue, como as mudanças na agregação, deformabilidade e fluidez de eritrócitos, no sentido de melhorar a eficiência na coleta, transporte e entrega de oxigênio aos tecidos. Estudar o exercício físico em relação à hemorreologia é importante para determinar a capacidade das células de transportar e transferir oxigênio para os tecidos. A compreensão dos efeitos do exercício físico na hemorreologia deve abranger análises distintas das alterações agudas e crônicas.

Palavras – chaves: exercício físico, eritrócitos, estabilidade osmótica, hemorreologia.

ABSTRACT

Several cellular processes and interactions are mediated through the membranes. To function ideally as cell membranes for stability and functionality, which depend on their degree of fluidity. Both extreme and insufficient fluidity are undesirable characteristics that affect cellular physiology and may contribute to a loss of stability and consequent acceleration of membrane destruction, leading to cell destruction. The erythrocytes are a good model for studying the stability of biological membranes for their convenience, as it is easy to monitor their lysis. The environment in which it is erythrocytes is not a decisive factor in determining the composition and fluidity of the cell membrane. This environment can be altered by diet, exercise and illness. Hemorheology is the study of the flow and blood components in the micro and macrocirculation. The regular practice of physical exercise, adaptation of hemorrhagic changes in the blood, such as changes in aggregation, deformability and fluidity of erythrocytes, there is no sense to improve the collection, transport and delivery of oxygen to tissues. Studying physical exercise in relation to hemorrhage is important in determining the ability of cells to transport and transfer oxygen to tissues. The understanding of the effects of physical exercise on hemorrhage should cover distinct acute and chronic analyzes.

Key words: physical exercise, erythrocytes, osmotic stability, hemorheology

INTRODUÇÃO

Os eritrócitos são um bom modelo para estudar a estabilidade de membranas biológicas por sua conveniência, pois é fácil monitorar sua lise. Além disso, propriedades como as mudanças na composição e comportamento das suas membranas pode se refletir em células no corpo^{1,2}. O ambiente no qual os eritrócitos se encontram no sangue é um fator decisivo na determinação da composição e da fluidez da membrana celular. Esse ambiente pode ser alterado pela dieta, exercício e várias doenças^{3,4}.

Entende-se por hemorreologia o estudo do fluxo e dos componentes do sangue na micro- e na macrocirculação⁵. Nesse ramo de pesquisa também ocorre à investigação dos fatores e das situações fisiológicas ou patológicas que influenciam o fluxo sanguíneo⁶. Dentre estes fatores estão os elementos que constituem o sangue, a deformabilidade e as propriedades físicas do sangue e dos eritrócitos, tais como: viscosidade, rigidez e estabilidade. Há um crescente número de dados clínicos e experimentais indicando claramente que o comportamento do fluxo sanguíneo é o fator determinante para uma perfusão tecidual adequada⁷.

A prática regular de exercício físico promove adaptações hemorreológicas no sangue, como as mudanças na agregação, deformabilidade e fluidez de eritrócitos, no sentido de melhorar a eficiência na coleta, transporte e entrega de oxigênio aos tecidos^{8,9}.

Estudar o exercício físico em relação à hemorreologia é importante para determinar a capacidade das células de transportar e transferir O₂ para os tecidos. A compreensão dos efeitos do exercício físico na hemorreologia deve abranger análises distintas das alterações agudas e crônicas. As alterações estão

relacionadas ao volume, intensidade, tipo, duração do exercício e nível de aptidão física do indivíduo^{10,11}.

Esse trabalho teve como objetivo realizar uma revisão da literatura sobre as alterações hemorreológicas agudas e crônicas causadas pelo exercício físico.

MATERIAIS E MÉTODOS

Esse trabalho foi elaborado a partir de uma revisão da literatura nas bases de dados Pubmed e Medline – Bireme, no período entre 1977 e 2016. As palavras-chave utilizadas foram, “hemorreologia” e suas correspondentes em inglês, “hemorheology”. Foram critérios de exclusão: artigos publicados antes de 1977 e os que não se relacionavam ao exercício, foram encontrados 2157 artigos no Pubmed e 1878 no Bireme.

Após a leitura dos títulos dos artigos, notou-se que alguns deles se repetiram e outros não preenchiam os critérios deste estudo. Foram selecionados 100 artigos para a leitura do resumo e excluídos os que não diziam respeito ao propósito deste estudo. Após a leitura dos resumos, foram selecionados 37 artigos que preenchiam os critérios inicialmente propostos e que foram lidos na íntegra.

Alterações hemorreológicas agudas pelo exercício

As principais alterações do exercício de forma aguda na hemorreologia são aumento da rigidez, aumento da viscosidade e a diminuição da deformabilidade dos eritrócitos^{12,13,14,15}. Essas alterações estão relacionadas com às modificações dos fluidos corporais, pelo aumento da concentração das células circulantes e da produção de metabólitos^{9,11}.

Os principais fatores responsáveis pela mudança de fluidos no organismo em decorrência do exercício físico são: redistribuição das células vermelhas no leito vascular¹⁶; contração do baço para aumentar a liberação de células vermelhas

circulantes^{17,18}; aumento da concentração de proteínas no plasma¹³; perda de água via suor e respiração para termorregulação¹⁹; entrada de água dentro das células musculares⁵.

Essas modificações fisiológicas ocorrem para atender a alta demanda de oxigênio pelos músculos e para regular a homeostase no momento do exercício. Os reflexos dessas mudanças no sangue são o aumento da viscosidade e menor resistência do fluxo. Notadamente nos glóbulos vermelhos são verificadas alterações nas propriedades da membrana, um aumento na rigidez e diminuição da deformabilidade e no volume da célula (aumento do hematócrito)^{20,11}.

Tanto o exercício agudo máximo e submáximo aumenta a viscosidade do sangue. Essa alteração é dependente da: viscosidade plasmática, hematócrito, e parâmetros estruturais associados à agregabilidade e à rigidez da célula⁹. O aumento da viscosidade plasmática está relacionado com às mudanças envolvidas com a alteração dos fluidos corpóreos e com a concentração de proteínas no plasma²¹.

Algumas associações são claras, como o aumento no hematócrito é proporcional ao aumento da capacidade de transportar oxigênio. Porém, com o aumento no hematócrito ocorre também um aumento da viscosidade e da resistência do fluxo sanguíneo, o que diminui a entrega de oxigênio para os tecidos. Esta complexa relação faz com que deva existir um valor ideal de hematócrito em que a capacidade de entrega de oxigênio aos tecidos seja a máxima possível⁷.

Apesar do valor do hematócrito aumentar durante o exercício, a restauração de seu valor é rápida e muitas vezes a elevação não chega a ser evidenciada depois do exercício¹⁵. Uma alteração reológica pouco comum de ser observada é o aumento da agregabilidade dos eritrócitos. Esse aumento está associado à elevação da concentração de proteínas no plasma, tais como albumina e fibrinogênio. A

presença de agregados pode prejudicar a distribuição normal das células vermelhas e a dinâmica do fluxo na microcirculação, levando a uma transferência inadequada de oxigênio para os tecidos²².

Os estudos encontrados em sua maioria indicam que o exercício físico promove diminuição na deformabilidade dos eritrócitos e um aumento de sua rigidez⁵. Uma das alterações plasmáticas que colabora com o aumento da rigidez dos eritrócitos é a elevação da concentração de lactato sanguíneo. Experimentalmente está comprovado que esse metabólito encolhe as células vermelhas e diminui sua flexibilidade⁵. Porém, novos estudos encontraram resultados discordante em relação à ação do lactato promover rigidez dos eritrócitos²¹.

Outros estudos concluíram que in vitro o lactato aumenta a deformabilidade dos eritrócitos em indivíduos treinados e diminui em indivíduos não treinados. Esse resultado sugere que indivíduos bem treinados, como atletas de endurance (exercício aeróbio de longa duração), apresentam hemácias mais resistentes à ação do lactato, mostrando que os eritrócitos sofrem influência do lactato de acordo com o nível de aptidão física²³.

O estresse oxidativo é outro fator que prejudica a deformabilidade dos eritrócitos. O estresse é induzido pelo aumento na produção de radicais livres durante o exercício. Yang e colaboradores avaliaram a deformabilidade dos eritrócitos após uma corrida de 5 km. Uma redução da deformabilidade foi encontrada associada a alterações na forma da célula, com aumento no número de células equinoides e uma alta taxa de hemólise. Junto com essas alterações foi observado um aumento na concentração de malondialdeído dentro das células vermelhas, em decorrência da lipoperoxidação, uma vez que aquele metabólito é o produto da peroxidação de ácidos graxos polinsaturados²⁴.

Outro fator que altera a deformabilidade durante o exercício é a quantidade de água dentro da hemácia. Cerca de 62% do conteúdo celular é água. A maior parte dessa molécula se encontra “ligada” a outras moléculas da célula e em menor quantidade (25%) “livres” dentro do eritrócito. A porcentagem de moléculas de água “ligadas” está associada à deformabilidade e ao transporte de oxigênio. Durante a realização do exercício agudo a quantidade total de água não se altera no eritrócito ou diminuiu de forma discreta, mas a porcentagem de água “livre” aumenta levando uma menor quantidade de água “ligada”, tendo como efeito uma diminuição da deformabilidade^{25,9}.

Com relação a todas as alterações hemorreológicas agudas relatadas, a alteração na deformabilidade é o fator mais importante a ser avaliado, pois variações nesta propriedade da célula resultam em modificações no fluxo sanguíneo nos capilares. Além disso, uma menor deformabilidade pode limitar a perfusão sanguínea¹¹.

Estudos recentes sugerem que uma diminuição singela da deformabilidade pode facilitar a extração de oxigênio do sangue. Assim sendo, essa redução, se não for acentuada, pode contribuir facilitando e aumentando a entrega de oxigênio dos eritrócitos para os tecidos que estão realizando trabalho muscular²⁶. Em conjunto, estes resultados indicam que agudamente o exercício físico promove aumento da viscosidade do sangue. Esse comportamento é resultado dos efeitos combinados de aumento da viscosidade do plasma e diminuição da deformabilidade das células vermelhas. Essas alterações podem prejudicar a microcirculação e, portanto, a liberação de oxigênio para os músculos em atividade²¹.

É importante destacar que as alterações hemorreológicas relatadas são modificações fisiológicas adaptativas que ocorrem durante a realização da maioria

dos exercícios e não implica riscos maiores para o indivíduo. Presumidamente, tais alterações são facilmente controladas com a hidratação durante o treinamento²².

Estudos recentes demonstraram a importância do eritrócito em liberar óxido nítrico(NO) conjuntamente com o endotélio vascular contribui para a vasodilatação e para uma maior deformabilidade dos eritrócitos durante o exercício, uma vez que a nitrosilação de proteínas do citoesqueleto na membrana do eritrócito parece melhorar sua deformabilidade²⁷.

Alterações hemorreológicas crônicas pelo exercício

É interessante destacar que as propriedades reológicas são alteradas em decorrência do exercício crônico. Na verdade existe uma correlação negativa entre o aumento da capacidade aeróbia e a viscosidade sanguínea²⁸. Sendo assim, a viscosidade do plasma, o hematócrito, a agregação e a rigidez dos eritrócitos são menores em atletas quando comparados com indivíduos sedentários²².

O exercício de forma regular deixa o sangue mais diluído e que os efeitos agudos da hemoconcentração ocorram de maneira leve, em um processo chamado de auto-hemodiluição crônica. São várias as adaptações proporcionadas pelo exercício que levam melhora da hemorreologia. Sendo as principais: aumento do volume plasmático e sanguíneo; modificação nas propriedades dos eritrócitos; aumento da taxa de renovação celular; mudança na composição corporal; maior oxidação de gorduras. Após horas da realização de exercício físico ocorre um aumento do volume plasmático, o que representa uma resposta reversa da hiperviscosidade, resultando em uma “auto-hemodiluição”. O aumento do volume plasmático é acompanhado de uma diminuição no hematócrito e das proteínas plasmáticas. Com a prática regular de exercício físico esse processo se torna constante e o sangue

dos indivíduos ativos e atletas se torna mais diluído quando comparado com pessoas sedentária^{5,22}.

Aliado as alterações reológicas, as propriedades dos eritrócitos de indivíduos ativos e atletas são diferentes quando comparadas com aquelas de indivíduos sedentários. A primeira adaptação positiva é o aumento da deformabilidade. A melhora dessa propriedade está relacionada ao aumento do volume plasmático, ao aumento da porcentagem de água dentro do eritrócito, ao aumento da taxa de renovação celular e à diminuição da rigidez da membrana do eritrócito^{26,22}.

Além do aumento na porcentagem de água total dentro do eritrócito, ocorre um aumento na porcentagem de água “ligada” e diminuição na porcentagem de água livre. Essa modificação contribui imensamente para uma melhora na deformabilidade dos eritrócitos^{22,29}.

Uma adaptação hematológica promovida pelo exercício é o aumento da renovação celular que colabora para a melhoria nas propriedades hemorreológicas do sangue^{26,25,30,31}. O exercício é um fator importante eficaz na estimulação da eritropoiese¹⁸.

Na verdade são os mecanismos empregados para reparar esses danos, que são os responsáveis pela estimulação da eritropoiese, tais como: hipóxia; ação Hormonal; maior taxa de hemólise; maior demanda de oxigênio para os tecidos em atividade. A exposição a situações de hipóxia ocorridas durante o exercício é um estímulo para haver produção de eritrócito. A ação hormonal de cortisol e catecolaminas libera reticulócitos da medula óssea e possivelmente estimulam a eritropoiese que também é estimulada pelo hormônio do crescimento e fatores de crescimento semelhantes à insulina que estão elevados durante o exercício²¹.

A maior velocidade da renovação celular em decorrência da prática regular de exercício físico está estreitamente relacionada à maior taxa de hemólise intracelular^{32,22}. Durante a realização de exercício físico ocorre uma intensificação da hemólise e os mecanismos relacionados mudam de acordo com o tipo de atividade realizada. No caso de exercícios que envolvem impacto com o solo, ocorre a destruição traumática dos eritrócitos circulantes nos microvasos da região dos pés devido ao impacto com o solo^{33,34}. Além do dano mecânico traumático, também é evidenciado um aumento da hemólise nos exercícios que não tem impacto³⁵. Nesse caso, a hemólise pode acontecer devido a compressão dos eritrócitos na microcirculação durante a rápida contração dos grandes músculos¹⁸. A idade dos eritrócitos é outro fator envolvido na hemólise. Quanto mais velha é a célula, menos resistente ao trauma ela se torna e, conseqüentemente, maior é a chance de ser lisada^{36,37}.

Aliado a maior taxa de hemólise que ocorre durante a realização de exercício está a maior necessidade do organismo por oxigênio. Para suprir essa demanda células mais eficientes devem ser recrutadas^{31,18}. Eritrócitos jovens possuem propriedades reológicas diferentes dos velhos. São mais deformáveis, mais fluídos e menos agregáveis, sendo assim mais flexíveis e eficientes para transportar oxigênio^{22,21}.

Os eritrócitos circulantes são menos rígidos em resposta a realização crônica de exercício físico. Essa alteração é um reflexo da perda de peso e da diminuição plasmática do colesterol LDL e aumento do colesterol HDL²². As alterações dos lipídios circulantes refletem na mudança da composição lipídica das membranas, o que contribui imensamente no aumento da sua fluidez. Na verdade a prática regular de exercício altera o metabolismo dos lipídios. Há uma maior taxa de oxidação dessas moléculas reduzindo na circulação os níveis de triglicerídeos e colesterol

LDL. Ocorre também perda de massa gorda e perda de peso (mudança da composição corporal) que contribuem para a desagregabilidade e aumento da deformabilidade dos eritrócitos²⁸.

Resumidamente, o treinamento contribui para a diminuição na concentração de todos os parâmetros conhecidos em alterar a reologia do sangue. Todas as adaptações reológicas em resposta ao treinamento regular são para facilitar a transferência de O₂ e a oxigenação tecidual, o que resulta em um melhor desempenho^{8,5}.

REFERÊNCIAS

1. de Freitas M V , Netto Rde C , da Costa Huss J C , de Souza T M , Costa J O , Firmino C B , Penha-Silva N . Influence of aqueous crude extracts of medicinal plants on the osmotic stability of human erythrocytes. *Toxicol In Vitro*. 2008 Feb;22(1):219-24.
2. Lemos GS D , Marquez-Bernardes L F , Arvelos L R , Paraíso L F , Penha-Silva N . Influence of glucose concentration on the membrane stability of human erythrocytes. *Cell Biochem Biophys*. 2011 Dec;61(3):531-7.
3. de Arvelos L R , Rocha V C , Felix G P , da Cunha C C , Bernardino Neto M , da Silva Garrote Filho M , de Fatima Pinheiro C , Resende E S , Penha-Silva N . Bivariate and multivariate analyses of the influence of blood variables of patients submitted to Roux-en-Y gastric bypass on the stability of erythrocyte membrane against the chaotropic action of ethanol. *J Membr Biol*. 2013 Mar;246(3):231-42.
4. de Freitas M V , de Oliveira M R , dos Santos D F , de Cassia Mascarenhas Netto R , Fenelon S B , Penha-Silva N . Influence of the use of statin on the

- stability of erythrocyte membranes in multiple sclerosis . *J Membr Biol.* 2010 Feb;233(1-3):127-34.
5. Brun, J.F., Connes, P., Varlet-Marie, E. Alterations of blood rheology during and after exercise are both consequences and modifiers of body's adaptation to muscular activity. *Science & Sports.* 2007;22(6):251–266.
 6. Copley, A. L. Fluid mechanics and biorheology. *Biorheology.*1990, 27(1), 3-19.
 7. Baskurt, O. K., Meiselman, H. J. Blood rheology and hemodynamics. *Semin Thromb Hemost.* 2003 Oct;29(5):435-50.
 8. Brun J F . Exercise hemorheology as a three acts play with metabolic actors: Is it of clinical relevance? *Clin Hemorheol Microcirc.*2002, 26(3): p.155 – 174.
 9. Brun J F , Khaled S , Raynaud E , Bouix D , Micallef J P , Orsetti A . The triphasic effects of exercise on blood rheology: which relevance to physiology and pathophysiology? *Clin Hemorheol Microcirc.* 1998 Oct;19(2):89-104.
 10. Connes, P., Frank, S., Martin, C., Shin, S., Aufradet, E., Sunoo, S., Klara, B., Raynaud de Mauverger, E., Romana, M., Romana, M., Kang, J., Varlet-Marie, E., Feasson, L., Hardy-Dessources, M. D., Wilhelm, B., Brun, J. F. New fundamental and applied mechanisms in exercise hemorheology. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2010;45(2-4), p. 131-141.
 11. Yalcin, O., Erman, A., Muratli, S., Bor-Kucukatay, M., & Baskurt, O. K. Time course of hemorheological alterations after heavy anaerobic exercise in untrained human subjects. *J Appl Physiol* (1985),2003; 94(3), 997-1002.
 12. Letcher, R. L., Pickering, T. G., Chien, S., & Laragh, J. H. Effects of exercise on plasma viscosity in athletes and sedentary normal subjects. *Clin Cardiol*, 1981 4(4), 172-179.

13. Nosadova, J. The changes in hematocrit, hemoglobin, plasma volume and proteins during and after different types of exercise. *Eur. J. Appl. Physiol.*, 1977 36(3), 223-230.
14. Wood, S. C., Doyle, M. P., & Appenzeller, O. Effects of endurance training and long distance running on blood viscosity. *Med Sci Sports Exerc*, 1991, 23(11), 1265-1269.
15. Vandewalle, H., Lacombe, C., Lelievre, J. C., & Poirot, C. Blood viscosity after a 1-h submaximal exercise with and without drinking. *Int J Sports Med*, 1988, 9(2), 104-107.
16. Martins. E., Silva. J. Blood rheological adaptation to physical exercise. *Rev Port Hemoreol.*1988, 2, 63-67.
17. Convertino, V. A., Keil, L. C., Bernauer, E. M., & Greenleaf, J. E. Plasma volume, osmolality, vasopressin, and renin activity during graded exercise in man. *J Appl Physiol Respir Environ Exerc Physiol.*1981, 50(1), 123-128.
18. Szygula, Z. Erythrocytic system under the influence of physical exercise and training. *Sports Med.*1990, 10(3), 181-197.
19. Stephenson, L. A., & Kolka, M. A. Plasma volume during heat stress and exercise in women. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol.*1988, 57(4), 373-381.
20. Wardyn, G. G., Rennard, S. I., Brusnahan, S. K., McGuire, T. R., Carlson, M. L., Smith, L. M., McGranaghan, S., Sharp, J. G. Effects of exercise on hematological parameters, circulating side population cells, and cytokines. *Exp Hematol.*2008, 36(2), 216-223.
21. Mairbaurl, H. Red blood cells in sports: effects of exercise and training on oxygen supply by red blood cells. *Front Physiol.*2013, 4, 332.

22. El-Sayed, M. S., Ali, N., & El-Sayed Ali, Z. Haemorheology in exercise and training. *Sports Med.* 2005, 35(8), 649-670.
23. Connes, P., Bouix, D., Py, G., Caillaud, C., Kippelen, P., Brun, J. F., Varray, A., Prefaut, C., Mercier, J. Does exercise-induced hypoxemia modify lactate influx into erythrocytes and hemorheological parameters in athletes? *J Appl Physiol.* 2004, 97(3), 1053-1058.
24. Yang, R.F., Zhao, C.G., Wu, Y.P., Wu, X. Deformability of erythrocytes after exercise. *Biorheology.* 1995, 32.
25. Baskurt, O. K., Hardeman, M.R., Rampling, M.W., Meiselman, H.J. (2007). *Handbook of Hemorheology and Hemodynamics.* Amsterdam: IOS Press.
26. Connes, P., Simmonds, M. J., Brun, J. F., & Baskurt, O. K. Exercise hemorheology: classical data, recent findings and unresolved issues. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2013, 53(1-2), 187-199.
27. Grau, M., Pauly, S., Ali, J., Walpurgis, K., Thevis, M., Bloch, W., & Suhr, F. RBC-NOS-dependent S-nitrosylation of cytoskeletal proteins improves RBC deformability. *PLoS One.* 2013, 8(2).
28. Brun, J. F., Varlet-Marie, E., Romain, A. J., & Raynaud de Mauverger, E. Interrelationships among body composition, blood rheology and exercise performance. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2011, 49(1-4), 183-197.
29. Peyreigne, C., Bouix, D., Micallef, J. P., Mercier, J., Bringer, J., Prefaut, C., & Brun, J. F. Exercise-induced growth hormone secretion and hemorheology during exercise in elite athletes. *Clin Hemorheol Microcirc.* 1998.19(2), 169-176.

30. Schmidt, W., Maassen, N., Trost, F., & Boming, D. Training induced effects on blood volume, erythrocyte turnover and haemoglobin oxygen binding properties. *Eur J Appl Physiol.* 1988, 57(4), 490-498.
31. Smith, J. A. Exercise, training and red blood cell turnover. *Sports Med.* 1995, 19(1), 9-31.
32. Deitrick, R.W. Intravascular haemolysis in the recreational runner. *Br J Sp Med.* 1991, 25(4), 183-187.
33. Eichner, E. R. Runner's macrocytosis: a clue to footstrike hemolysis. Runner's anemia as a benefit versus runner's hemolysis as a detriment. *Am J Med.* 1985, 78(2), 321-325.
34. Telford, R. D., Sly, G. J., Hahn, A. G., Cunningham, R. B., Bryant, C., & Smith, J. A. Footstrike is the major cause of hemolysis during running. *J Appl Physiol* (1985). 2003, 94(1), 38-42.
35. Robinson, Y., Cristancho, E., & Boming, D. Intravascular hemolysis and mean red blood cell age in athletes. *Med Sci Sports Exerc.* 2006, 38(3), 480-483.
36. Bartosz, G. Erythrocyte aging: physical and chemical membrane changes. *Gerontology.* 1991, 37(1-3), 33-67.
37. Waugh, R. E., Narla, M., Jackson, C. W., Mueller, T. J., Suzuki, T., & Dale, G. L. (1992). Rheologic properties of senescent erythrocytes: loss of surface area and volume with red blood cell age. *Blood*, 79(5), 1351-1358.

V. ARTIGO CIENTIFICO 2

Variações bioquímicas e da estabilidade de membrana eritrocitária após sessão de treino resistido.

Biochemical variations and erythrocyte membrane stability after resistance training session.

Igor Sombra Silva¹, Mario da Silva Garrote Filho², Nilson Penha Silva³, Miguel Junior Sordi Bortolini⁴, Leticia Ramos de Arvelos⁵, Romeu Paulo Martins Silva⁶.

We are glad to inform that

¹Fisioterapeuta, Mestrando em Ciências da Saúde na Amazônia Ocidental da Universidade Federal do Acre – UFAC.

²Doutor em Bioquímica e Genética, Universidade Federal de Uberlândia – UFU.

³Doutor em Bioquímica e Imunologia, Prof. Dr.º Universidade Federal de Uberlândia – UFU.

⁴ Doutor em Imunologia e Parasitologia Aplicadas, Prof. Dr.º Universidade Federal do Acre – UFAC.

⁵ Doutora em Bioquímica e Genética, Universidade Federal de Uberlândia – UFU

⁶Doutor em Genética e Bioquímica, Prof. Dr.º Universidade Federal do Acre – UFAC.

Correspondência para Igor Sombra Silva. Endereço: UNIVERSIDADE FEDERAL DO ACRE, Bloco Francisco Mangabeira Sala 17 - Campus Universitário – 1º Piso, BR 364, Km 04 - Distrito Industrial, CEP 69915-900 – Rio Branco-AC. Telefone: (68) 98112-9324. Email: igor_sombra@yahoo.com.br

RESUMO

Introdução: A prática de exercício físico é um fator que pode ocasionar aumento significativo de enzimas indicadoras de lesão muscular e promove adaptações hemorreológicas no sangue, como as mudanças na agregação, deformabilidade e fluidez de eritrócitos. **Objetivo:** Verificar o efeito de uma única sessão de treinamento físico de múltiplas series e circuito nas variações enzimáticas e na estabilidade da membrana eritrocitária. **Métodos:** A população do estudo consistiu inicialmente com 108 homens finalizando com 21 homens saudáveis e ativos. Os participantes realizaram sessões únicas de dois tipos de treinamento. A primeira sessão foi constituída do treino tipo circuito e a segunda sessão, executada uma semana depois, consistiu em uma sessão de treino tipo múltiplas series. Amostras de sangue foram coletadas antes e imediatamente após o treinamento para a determinação da estabilidade eritrocitária e para determinações bioquímicas. A estabilidade osmótica da membrana dos eritrócitos foi representada pelo inverso da concentração de sal (1/H50) no ponto médio da curva sigmoideal de dependência entre a absorbância da hemoglobina e a concentração de NaCl. **Resultados:** Não houve alterações dos índices da estabilidade de membrana eritrocitária no treino circuito e múltiplas series. Quando comparado o antes e o após das concentrações enzimáticas nos diferentes treinos os valores plasmáticos de creatina quinase total (CK-NAC), isoenzima miocárdica da creatina quinase (CK-MB), lactato desidrogenase (LDH), aspartato aminotransferase e (AST) alanina aminotransferase (ALT) foram mais elevados no pós treino para um $p < 0,05$. Na comparação entre os diferentes treinos apenas as concentrações plasmáticas de CK-MB e CK-NAC tiveram seus valores mais elevados no múltiplas series após o treino para um $p < 0,05$. A frequência cardíaca foi mais elevada após os dois treinos tendo maiores valores no após treino em circuito para um $p < 0,05$. **Conclusão:** Uma única sessão de treino circuito e múltiplas series não afetou a estabilidade osmótica de eritrócitos, ocorrendo variação nas enzimas musculares que determinam maior lesão no treino múltiplas series e maior variação da capacidade cardíaca com maiores valores da frequência cardíaca no treino circuito.

Palavras-chave: exercício agudo, eritrócitos, creatina quinase, estabilidade osmótica.

ABSTRACT

Introduction: *The practice of physical exercise is a factor that can cause a significant increase of enzymes indicative of muscle injury and promotes hemorheological adaptations in the blood, such as changes in aggregation, deformability and fluidity of erythrocytes.* **Objective:** *To verify the effect of a single physical training session of multiple series and circuits on the enzymatic variations and the erythrocyte membrane stability.* **Methods:** *The study population consisted initially of 108 men who finished with 21 healthy and active men. Participants held single sessions of two types of training. The first session consisted of circuit training and the second session, held a week later, consisted of a multi-series training session. Blood samples were taken before and immediately after training for the determination of erythrocyte stability and for biochemical determinations. The osmotic stability of the erythrocyte membrane was represented by the inverse salt concentration (1 / H50) at the midpoint of the sigmoidal curve of dependence between hemoglobin absorbance and NaCl concentration.* **Results:** *There were no changes in erythrocyte membrane stability index in circuit training and multiple series. When compared to the enzyme concentrations before and after the different training sessions, plasma creatine kinase (CK-NAC), creatine kinase isoenzyme (CK-MB), lactate dehydrogenase (LDH), aspartate aminotransferase and AST, Alanine Aminotransferase (ALT) were higher in post-training at $p < 0.05$. In the comparison between the different training sessions, only the plasma concentrations of CK-MB and CK-NAC had their highest values in the multiple series after training at $p < 0.05$. The heart rate was higher after the two training sessions, which presented higher values in the training after the training, with $p < 0.05$.* **Conclusion:** *A single-circuit and multiple-series training session did not affect the osmotic stability of erythrocytes, with variation in muscle enzymes leading to increased lesion in multiple training series and greater variation in cardiac capacity with higher heart rate values in circuit training .*

Key words: acute exercise, erythrocytes, creatine kinase, osmotic stability.

INTRODUÇÃO

O treinamento resistido tem sido estudado de forma abrangente na maioria das práticas esportivas como um complemento no condicionamento físico de atletas. Esse tipo de treinamento tem sido amplamente prescrito devido aos notáveis avanços na performance. Para ganhos de força, potência, hipertrofia e alterações na composição corporal, o treinamento resistido é de grande importância. Mas para que esses efeitos sejam alcançados, o volume e a intensidade tem que ser prescritos de forma correta para que seus objetivos tenham êxito. Isso significa que a ordem de exercícios, número de séries, número de repetições, tempo de descanso, intervalo entre as séries e frequência de treinamento tem que ser levados em conta ^{1,2}.

Existem vários tipos de treinamento entre eles podemos citar o treino circuito e múltiplas series. O treinamento físico do tipo circuito treina a capacidade física mais generalizada e mostra bons resultados tanto na preparação cardiorrespiratória como a neuromuscular. Esse tipo de treinamento consiste em uma sequência de exercícios executada de forma intensa, com um mínimo de intervalo entre eles. Na maioria das vezes é realizado em aparelhos de musculação. O circuito pode trabalhar com maior predominância o sistema anaeróbio, o sistema aeróbio ou ambos os sistemas em tempos diferentes da mesma sessão de treino.³ O treino tipo múltiplas series é o mais difundido entre os praticantes do treinamento de força, podendo ser utilizado pelo indivíduo sedentário e por atleta alta performance, para qualquer objetivo, desde que se ajuste o número de séries e repetições. Esses dois tipos de treinamentos resistidos levam a micro lesões musculares que liberam enzimas servindo como marcadores de lesão⁴

Existem muitas enzimas no nosso corpo que são consideradas como indicadoras de lesão tecidual, inclusive do tecido muscular, quando este é lesado ou estressado. A pratica de exercício físico é um fator que pode ocasionar aumento significativo de enzimas indicadoras de lesão muscular, tais como a lactato desidrogenase (LDH) e a creatinaquinase (CK)^{5,6}.

Vários processos e interações celulares são mediados através das membranas. Para funcionamento ideal, as membranas celulares devem ter estabilidade e funcionalidade, propriedades que dependem do seu grau de fluidez^{7,8}. Tanto a fluidez extrema como a insuficiente são características indesejáveis que

afetam a fisiologia celular e podem contribuir para a perda de estabilidade e consequente aceleração da destruição da membrana, levando à destruição celular^{9,10}.

Os eritrócitos são um bom modelo para estudar a estabilidade de membranas biológicas por sua conveniência, pois é fácil monitorar sua lise. Além disso, propriedades como as mudanças na composição e comportamento das suas membranas pode se refletir em células no corpo^{11,12}. O ambiente no qual os eritrócitos se encontram no sangue é um fator decisivo na determinação da composição e da fluidez da membrana celular. Esse ambiente pode ser alterado pela dieta, exercício e várias doenças^{13,14}.

Entende-se por hemorreologia o estudo do fluxo e dos componentes do sangue na micro- e na macrocirculação¹⁹. Nesse ramo de pesquisa também ocorre à investigação dos fatores e das situações fisiológicas ou patológicas que influenciam o fluxo sanguíneo²⁰. Dentre estes fatores estão os elementos que constituem o sangue, a deformabilidade e as propriedades físicas do sangue e dos eritrócitos, tais como: viscosidade, rigidez e estabilidade. Há um crescente número de dados clínicos e experimentais indicando claramente que o comportamento do fluxo sanguíneo é o fator determinante para uma perfusão tecidual adequada²¹.

A prática regular de exercício físico promove adaptações hemorreológicas no sangue, como as mudanças na agregação, deformabilidade e fluidez de eritrócitos, no sentido de melhorar a eficiência na coleta, transporte e entrega de oxigênio aos tecidos^{15,16}.

Estudar o exercício físico em relação à hemorreologia é importante para determinar a capacidade das células de transportar e transferir O₂ para os tecidos. A compreensão dos efeitos do exercício físico na hemorreologia deve abranger análises distintas das alterações agudas e crônicas. As alterações estão relacionadas ao volume, intensidade, tipo, duração do exercício e nível de aptidão física do indivíduo^{17,18}.

O objetivo dessa pesquisa foi verificar o efeito do treinamento físico de múltiplas series e circuito nas variações enzimáticas e na estabilidade da membrana eritrocitária.

MÉTODOS

Amostra

Inicialmente o estudo era composto por 108 indivíduos e após os critérios de seleção da amostra através da menor variação dos parâmetros na avaliação antropométrica. Onde os voluntários deveriam ter uma pequena variação do desvio padrão. A amostra selecionada no final da avaliação apresentou um desvio padrão de 0.82 do percentual de gordura, 0.41 índice de massa magra, 0.01 altura, 1.58 peso foi constituída por 21 indivíduos do sexo masculino, 1.83 com idade entre 20 e 25 anos (Tabela 1). Eram saudáveis, não sedentários, e familiarizados com o treinamento proposto. Para a seleção da amostra consideramos os seguintes critérios: não apresentar histórico de lesão musculoesquelética; não estar fazendo uso de esteroides anabolizantes sintéticos, drogas ou substâncias similares; não está em uso de suplementos nutricionais a pelo menos um mês; não apresentar qualquer outro problema de saúde que limite sua participação nos testes de esforço.

Os voluntários eram praticantes de musculação com tempo de treino entre um ano e um ano e três meses que concordaram espontaneamente em participar do estudo, que já havia sido aprovado no comitê de ética.

Coleta de dados e realização da pesquisa

Para a coleta de dados os participantes foram submetidos a teste de 1RM (repetição máxima) para mensuração da carga máxima nos seguintes aparelhos: Leg Press 45°, Supino Reto, Pulley Aberto Frente, Cadeira Extensora, Supino Inclinado, Remada Baixa, Cadeira Flexora, Peck Deck e Pulley Supinado. Os 21 voluntários realizaram o treino múltiplas series e depois de 7 dias de descanso eles faziam o treino circuito após os treinos eram feitas as coletas de sangue.

Teste de 1RM (mensuração da carga máxima)

Para mensurar a carga máxima dos voluntários foi utilizado o protocolo de 1RM, consistido de aquecimento geral, alongamento e aquecimento específico com 20 repetições e com a menor carga do aparelho^{22,23}. Foi considerada como a maior carga aquela que movida de uma única vez com a técnica correta de execução do movimento. Para definir a carga máxima, foram realizadas, no máximo, três

tentativas e um intervalo de cinco minutos entre cada tentativa. A fim de atenuar erros no teste de 1RM os indivíduos foram orientados sobre a forma correta de execução e foram observados e corrigidos durante todo o processo avaliativo²⁴.

Treino de Múltiplas Séries.

O Treino de múltiplas séries foi composto por 3 séries de 12 repetições máximas com descanso de 1 minuto entre séries e de 2 minutos entre exercícios. Os exercícios utilizados no treino foram feitos nessa ordem de sequência: Leg Press 45°, Supino Reto, Pulley Aberto Frente, Cadeira Extensora, Supino Inclinado, Remada Baixa, Cadeira Flexora, Peck Deck e Pulley Supinado; seguindo sempre esta mesma ordem. A carga usada foi de 60% de 1RM.

Treino Circuito

O treino circuito foi feito em 3 voltas completas no circuito sendo cada volta composta por 1 série de 12 repetições máximas, em cada aparelho, seguindo sempre a mesma ordem de exercícios (Leg Press 45°, Supino Reto, Pulley Aberto Frente, Cadeira Extensora, Supino Inclinado, Remada Baixa, Cadeira Flexora, Peck Deck e Pulley Supinado); sem descanso entre as séries, entretanto com descanso de 1 minuto após cada volta completa. A carga usada foi de 60% de 1RM.

Antes e imediatamente após cada sessão foi aferido a frequência cardíaca com um monitor cardíaco da marca Polar modelo FT4M, saturação da hemoglobina com um oxímetro de dedo da marca new tech modelo pm100c e pressão arterial com Esfigmomanômetro e estetoscópio Aneróide Premium. A força inicial e final dos indivíduos foi avaliada com testes de dinamometria (para aferir a força isométrica), impulsão vertical (para aferir a força explosiva) e repetição máxima (RM) nos aparelhos leg press 45° e supino reto (para avaliar a força dinâmica).

Coleta de Sangue

Amostras de sangue foram coletadas por punção venosa antes e imediatamente após o treinamento múltiplas series e circuito em tubos de vácuo (Vacutainer, Becton Dickinson, Juiz de Fora, Brasil) contendo EDTA (para avaliações hematológicas e determinação do estabilidade eritrócitos), heparina (para a determinação da actividade de peroxidase de glutaciona) e sem anticoagulante (Para

determinações bioquímicas). A creatina quinase (CK), lactato desidrogenase (LDH), aspartato aminotransferase e (AST) alanina aminotransferase (ALT) foram estabelecidos pelo método enzimático colorimétrico automatizado, utilizando kits comerciais específicos (Labtest®) no aparelho Roche Cobas Mira Plus.

Avaliação da estabilidade osmótica da membrana dos eritrócitos

As soluções de NaCl foram preparadas utilizando reagente de alta pureza (99%) (Labsynth, Diadema, SP, Brasil) em água ultrapura (Millipore Corporation, São Paulo, Brasil). As medições de massa foram feitas utilizando balança analítica (Shimadzu, modelo AW220, Japão). As medições de volume foram feitas utilizando pipetas automáticas (Labsystems, Helsinki, Finlândia). As incubações foram realizadas em banho termostático (modelo 184 MA, Marconi, Piracicaba, Brasil). As leituras de absorvância foram feitas num espectrofotômetro digital (modelo UV-1650, Shimadzu, Tóquio, Japão). As centrifugações foram realizadas numa centrífuga refrigerada (modelo II CF15RX, Hitachi Koki, Hitachinaka, Japão). O teste de fragilidade osmótica foi conduzido numa série duplicada de microtubos (Eppendorf, Hamburgo, Alemanha) contendo 1,5 ml de NaCl a concentrações compreendidas entre 0,1 e 0,9 g / dl. Inicialmente, os tubos foram pré-incubados durante 10 minutos a 37 ° C no banho termostato. Após pré-incubação, adicionaram-se 10 µl de sangue a cada microtubo. Após homogeneização, os microtubos foram incubados durante 30 min a 37 ° C. Em seguida, os microtubos foram centrifugados a 1600 x g durante 10 minutos a 37 ° C e os seus sobrenadantes foram sujeitos a leituras de absorvância a 540 nm. Os gráficos de absorvância a 540 nm (A_{540}) em função da concentração de NaCl (X) foram ajustados às linhas de regressão sigmoidal (Figura 1) de acordo com a equação de Boltzmann:

$$A_{540} = \frac{A_{\min} - A_{\max}}{1 + e^{(X-H_{50})/dX}} + A_{\max}$$

onde A_{\max} e A_{\min} representam os valores médios de absorvância em 540 nm nos platôs mínimo e máximo do sigmóide, respectivamente; H_{50} é a concentração de

NaCl (g/dL) capaz de promover 50% de hemólise; dX é a variação em NaCl Concentração responsável pela lise total dos eritrócitos.

A_{max} é o valor médio máximo de absorvância e é proporcional à quantidade de hemoglobina libertada a partir de eritrócitos sob as condições hipotônicas mais elevadas da experiência. A_{min} é o valor médio mínimo de absorvância e pode representar a estabilidade in vivo de eritrócitos quando a lise não está associada com a manipulação do sangue do doente. A estabilidade osmótica dos eritrócitos pode ser adequadamente expressa pelos valores de $1/H_{50}$ e dX , uma vez que ambos estão diretamente associados com a estabilidade osmótica da membrana eritrocitária^{25,26,27}.

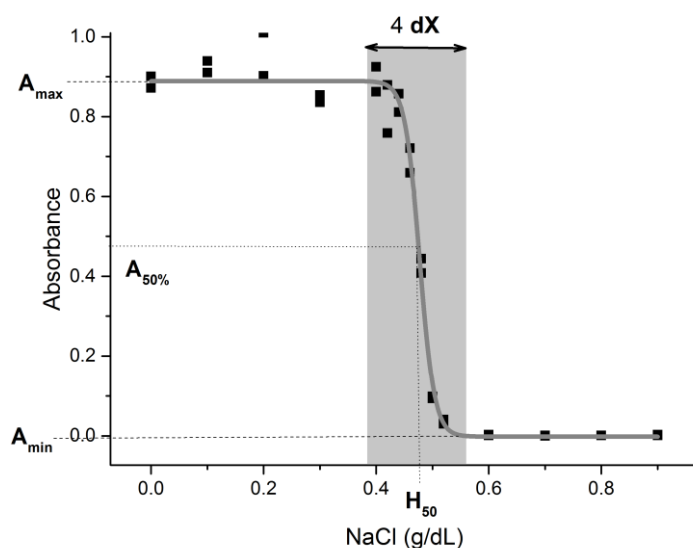


Figura 1: Curva sigmoideal típica de hemólise por solução hipotônica de NaCl. H_{50} é a concentração de NaCl capaz de promover 50% de hemólise; dX representa a alteração na concentração de NaCl responsável pela transição da hemólise. A_{min} e A_{max} representam os valores médios mínimo e máximo de absorvância, respectivamente.

Análise estatística

As variáveis antropométricas analisadas foram: idade, peso, altura, IMC e porcentagem de gordura corporal. As variáveis de resistência osmótica do eritrócito foram: $1/H_{50}$, dX , A_{max} , A_{min} e dA ($A_{max} - A_{min}$). Já as variáveis clínicas incluíram: CA-MB, CK-NAC, AST, ALT, LDH e Frequência cardíaca (HF). As

variáveis de resistência osmótica e de natureza clínica foram, cada uma, dividida em quatro grupos conforme o tipo de exercício realizado (circuito ou múltiplas) e o momento de realização do exercício (antes ou depois). Assim, para cada uma dessas variáveis, foram formados os seguintes grupos: CA (circuito antes), CP (circuito pós), MA (múltiplas antes) e MP (múltiplas pós). Para cada uma dessas variáveis, os grupos CA, CP, MA e MP foram comparados de acordo com a destruição apresentada. O teste de normalidade utilizado foi o de Shapiro-Wilk.

A maioria das variáveis apresentou destruição normal. Para essas variáveis, os grupos CA, CP, MA e MP foram comparados por meio de ANOVA para medidas repetidas, pois as medições foram realizadas no mesmo indivíduo. Para as variáveis com destruição não-normal, as comparações foram feitas por meio do teste de Wilcoxon, que é o equivalente não-paramétrico ao teste t de Students para dados pareados. A significância considerada foi de 0.05.

O teste de Wilcoxon foi aplicado para as variáveis 1/H50 devido ao grupo CA, Amin devido aos grupos CP e MA, CK-MB devido ao grupo CA e CK-NAC devido ao grupo MP. Para as demais variáveis, todos os grupos apresentaram distribuição normal e a comparação entre esses grupos foi, portanto, feita por meio do teste t para dados pareados. Para as variáveis com destruição normal foram informados os valores de média e desvio padrão. Já para aquelas com destruição não-normal foram apresentados os valores de mediana e intervalo interquartil (IQR).

Para o teste de normalidade e estatística descritiva (média, mediana, etc) foi utilizado o software OriginPro 2016. Para os testes de comparação dos grupos CA, CP, MA e MP para cada variável foi utilizado o software SPSS 24. Para a criação das figuras foi utilizado o software GraphPad Prism 5.

RESULTADOS

A Tabela 1 apresenta os valores das medidas descritivas (média e desvio padrão) das variáveis idade, peso e percentual de gordura obtidos dos 21 indivíduos dos grupos estudados. As variáveis altura e IMC (índice de massa corporal) apresentaram distribuição não-normal.

Tabela 1: Características basais da população estudada.

Variável	Media	Desvio Padrão
Idade	22.82	1.83
Peso	76.91	1.58
Altura*	1.75	0.01
IMC*	25.14	0.41
Porcentagem de Gordura	15.45	0.82

* Variáveis que apresentaram distribuição não-normal.

Para essas variáveis foi indicado o valor de mediana e intervalo interquartil (IQR)

A figura 2 apresenta os valores das médias das atividades de CK-MB. As concentrações plasmáticas de CK-MB foram significativamente superiores após o treino circuito (88,64U/L) comparadas com antes do treino circuito (20,25U/L) com aumento de 441,44% e também no grupo antes do treino múltiplas series (22,86U/L) e após o treino múltiplas series (109,98U/L) aumentando 498,61%. Quando comparado os grupos circuito e múltiplas series após o treinamento os valores foram mais elevados no grupo múltiplas series para um $p < 0,05$ com variação de 27,53%.

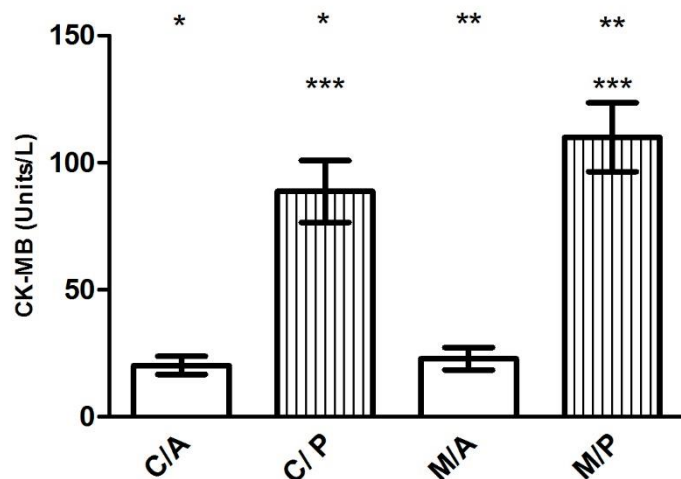


Figura 2: Atividade plasmática das isoenzimas da creatina quinase (CK-MB). Antes (C/A) e pós (C/P) para treinamento circuito, antes (M/A) e pós (M/P) para múltiplas series. Valores são médias com intervalo de confiança de 95% com o mesmo símbolo são significativamente diferentes ($p < 0,05$).

Analisando a figura 3 observa-se os valores das medias das atividades de CK-NAC. As concentrações plasmáticas de CK-NAC foram significativamente maiores após o treino circuito (372,36U/L) comparadas com antes do treino circuito (225,64U/L) com aumento de 165,02% e também no grupo antes do treino múltiplas series (208,45U/L) e após o treino múltiplas series (426,82U/L) aumentando 204,75%. Quando comparado os grupos circuito e múltiplas series após o treinamento os valores foram mais elevados no grupo múltiplas series para um $p < 0,05$ com variação de 14,62%.

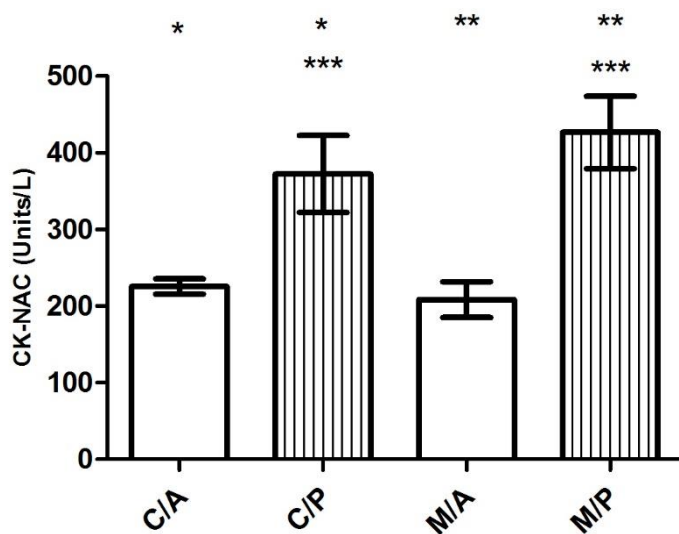


Figura 3: Atividade plasmática das enzimas creatina quinase (CK-NAC). Antes (C/A) e pós (C/P) para treinamento circuito e, antes (M/A) e pós (M/P) para múltiplas series. Valores são médias com intervalo de confiança de 95% com o mesmo símbolo são significativamente diferentes ($p < 0,05$).

Na figura 4 é possível verificar os valores das medias das atividades de LDH. As concentrações plasmáticas de LDH foram significativamente maiores após o treino circuito (423,61U/L) comparado com antes do treino circuito (367,49U/L) com aumento de 115,27% e também no grupo antes do treino múltiplas series (376,46U/L) e após o treino múltiplas series (398,8U/L) aumentando 105,93% para um $p < 0,05$. Quando comparado os grupos múltiplas series e circuito não houve alterações significativas tendo valores mais elevados no treino circuito de 5,85% para um $p > 0,05$.

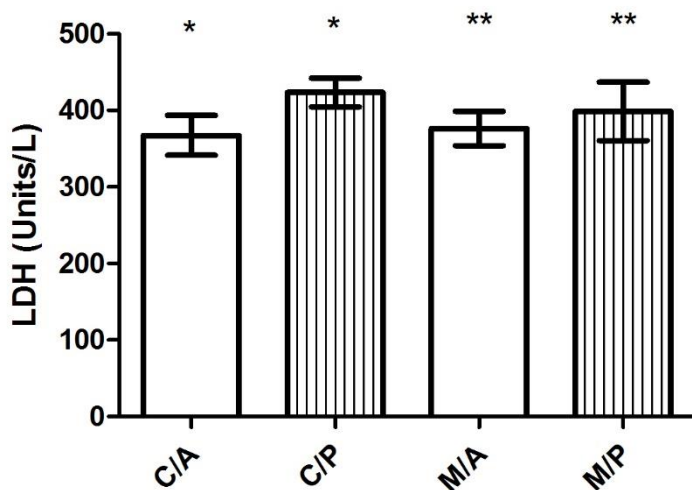


Figura 4: Atividade plasmática das enzimas lactato desidrogenase (LDH). Antes (C/A) e pós (C/P) para treinamento circuito, antes (M/A) e pós (M/P) para múltiplas series. Valores são médias com intervalo de confiança de 95% com o mesmo símbolo são significativamente diferentes ($p < 0,05$).

Na figura 5 é possível verificar os valores das medias das atividades de AST. As concentrações plasmáticas de AST foram significativamente maiores após o treino circuito (57,64U/L) quando comparado os valores antes do treino circuito (49,73U/L) com aumento de 115,90% e também no grupo antes do treino múltiplas series (47,09U/L) e após o treino múltiplas series (57,09U/L) aumentando 121,23% para um $p < 0,05$. Quando comparado os grupos múltiplas series e circuito não houve alterações significativas tendo valores mais elevados no treino múltiplas series de 0,94% para um $p > 0,05$.

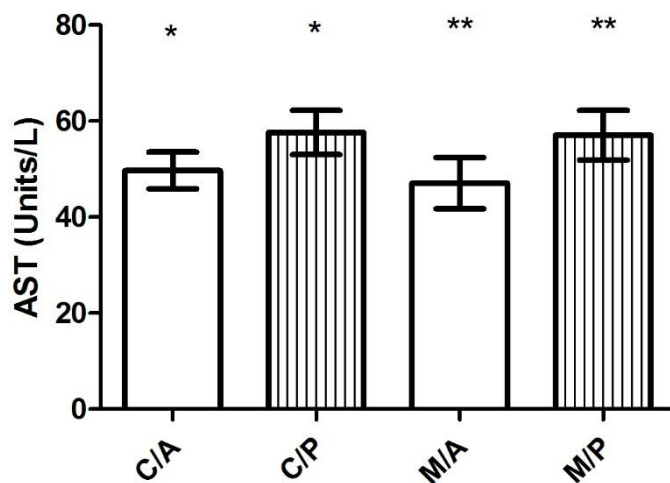


Figura 5: Atividade plasmática das enzimas aspartato aminotransferase (AST). Antes (C/A) e pós (C/P) para treinamento circuito, antes (M/A) e pós (M/P) para múltiplas series. Valores são médias com intervalo de confiança de 95% com o mesmo símbolo são significativamente diferentes ($p < 0,05$).

Na figura 6 é possível verificar os valores das medias das atividades de ALT. As concentrações plasmáticas de ALT foram significativamente maiores após o treino circuito (77U/L) quando comparado com antes do treino circuito (28,91U/L) com aumento de 266,95% e também no grupo antes do treino múltiplas series (28,64U/L) e após o treino múltiplas series (83,73U/L) aumentando 292,38% para um $p < 0,05$. Quando comparado os grupos múltiplas series e circuito não houve alterações significativas tendo valores mais elevados no treino múltiplas series de 8,73% para um $p > 0,05$.

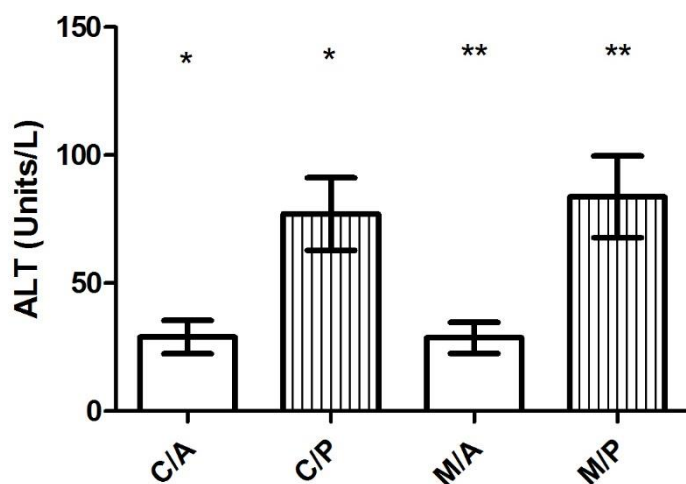


Figura 6: Atividade plasmática das enzimas alanina aminotransferase (ALT). Antes (C/A) e pós (C/P) para treinamento circuito, antes (M/A) e pós (M/B) para múltiplas series. Valores são médias com intervalo de confiança de 95% com o mesmo símbolo são significativamente diferentes ($p < 0,05$).

Conforme mostrado na Tabela 2, em relação às variáveis de resistência osmótica, para dA houve diferença entre os grupos CA e MP ($p = 0.042$). Mais precisamente, o valor de dA do grupo MP foi maior que o do grupo CA. Para Amax

não foi encontrada diferença entre os grupos CA e MP ($p = 0.062$). Novamente, para Amax, o grupo MP foi maior que o CA. não houve alterações significativas nessas variáveis estudadas. Houve aumento significativo da frequência cardíaca antes e após os diferentes treinos com valores mais elevados no treino em circuito quando comparado o após dos dois treinos para um $p < 0,05$.

Tabela 2: Valores das variáveis da estabilidade osmótica antes e após o treinamento circuito e múltiplas

Variável	Circuito				Múltiplas			
	Antes		Depois		Antes		Depois	
	Media	DP	Media	DP	Media	DP	Media	DP
1/H ₅₀ *	2.17	0.18	2.20	0.19	2.25	0.15	2.19	0.11
dX	0.016	0.005	0.016	0.006	0.015	0.005	0.014	0.004
A _{max}	0.919	0.052	1.000	0.121	1.002	0.142	1.060	0.104
A _{min} *	0.018	0.007	0.016	0.016	0.021	0.024	0.018	0.023
dA	0.901 [@]	0.048	0.974	0.123	0.976	0.143	1.042 [@]	0.110
FC	63.36 [#]	5.32	171.45 [#]	22.03	66 ^{&}	7.95	142.73 ^{&}	19.31

* Variáveis que apresentaram distribuição não-normal. Para essas variáveis foi indicado o valor de mediana e intervalo interquartil (IQR)

[#] Diferença estatisticamente significativa ($P \leq 0,05$) quando comparada com o treino circuito antes

[&] Diferença estatisticamente significativa ($P \leq 0,05$) quando comparada com o treino múltiplas antes

[@] Diferença estatisticamente significativa ($p \leq 0,05$)

FC: Frequência cardíaca; dA: A_{max} – A_{min};

DISCUSSÃO

O presente estudo permitiu ilustrar os efeitos do treinamento tipo circuito e múltiplas series sobre a atividade das enzimas CK – MB, CK – NAC, ALT, AST, LDH e verificar a estabilidade de membrana eritrocitária.

Os métodos indiretos adotados para análise do dano muscular são os mais utilizados nos estudos em função da facilidade de coleta e, sobretudo, pelo baixo custo, quando comparado aos métodos diretos. A creatina quinase (CK) e lactato desidrogenase (LDH) são duas enzimas envolvidas no metabolismo muscular e frequentemente encontradas como marcadores de dano muscular após treinamento de força. Essas enzimas são citoplasmáticas e não tem a capacidade de atravessar a barreira da membrana sarcoplasmática. Portanto, se a concentração sérica dessas enzimas estiver aumentada, temos um indicativo que houve dano na membrana muscular^{28,29}.

Vários autores mostram nos seus estudos que o aumento da CK na circulação é um potente marcador indireto de dano ao tecido muscular após o treinamento físico de força resistido^{29,30,31,32,33}. Na Figura 2 e Figura 3 é possível observar aumento da concentração sérica da CK e CK - MB, valor encontrado 24 h após a sessão de treinamento. Achados semelhantes foram encontrados por Raastad et al.³⁴, que realizaram um protocolo de treinamento de força múltiplas series e os resultados expressaram aumentos na concentração sérica de CK 10 h após o término da sessão de carga, tendo o pico 24 horas após e mantendo-se alta até 48 h após o exercício.

Segundo Güzel, N. A., Hazar, S., & Erbas, D³⁵. Que utilizou o protocolo de treinamento circuito de alta e baixa intensidade as atividades de CK mostraram um aumento significativo em todos os valores pós-exercício ($p < 0,05$) de ambos os grupos, mas não houve diferença entre os grupos de alta e baixa intensidade.

Em um estudo com 31 jovens jogadores profissionais de hóquei em campo (13 do sexo feminino e 18 do sexo masculino) houve aumento imediatamente após os exercício das Enzimas CK- Nac, CK-MB, ALT e AST tanto em homens como em mulheres. Alterações nas enzimas musculares e hepáticas são rotineiramente usadas como indicadores de lesão nos músculos, coração e fígado, essas enzimas podem esta elevadas em casos patológicos ou pela execução de exercícios que

aumentam o efluxo de enzimas musculares e hepáticas, no músculo tal efluxo é comumente utilizado como indicador da intensidade de exercício e do estresse do tipo de treinamento³⁶.

O exercício causa micro-lesões no músculo esquelético. Em resposta a estas lesões, várias substâncias são liberadas como as enzimas que são marcadores de lesão muscular. Exercícios causam lesões na estrutura dos miócitos, sarcolema e discos Z³⁷. A CK-MB é uma isoforma de aumento da creatina quinase, especialmente no infarto do miocárdio, esse aumento também ocorre durante exercícios, rbdomiólise, trauma muscular e distrofia muscular³⁸. Estudo realizado com soldados treinados conclui que a quantidade de exercício e a intensidade determina o nível de dano muscular, sugerindo que o exercício de maior intensidade causará maior ruptura das membranas celulares. Contudo com recuperação adequada, também pode provocar uma maior adaptação ao exercício no menor tempo possível³⁹.

Os níveis de CK-NAC, CK-MB e LDH aumentaram após exercícios físicos sendo associado a lesões musculares, pois se desloca do interior das células para a corrente sanguínea como consequência do rompimento da membrana plasmática da célula muscular⁴⁰. Em relação à frequência cardíaca, segundo Polito, et al⁴¹, a frequência cardíaca em repouso se situa em torno de 60 a 80 batimentos por minuto, sendo assim os voluntários se encontravam dentro dos padrões normais, antes do treino múltiplas séries e circuito, um fator relevante a ser observado é a frequência cardíaca após a realização do treino de múltiplas séries, que se apresentou mais baixa quando comparada com o treino circuito, corroborando com Efron⁴², Polito e Farrinatti⁴¹, que relata que essa diminuição da frequência cardíaca pode ser pelo tempo de intervalo entre as séries, onde a frequência cardíaca retorna praticamente aos patamares pré exercício, e como consequência induz um duplo produto de baixo risco cardíaco, demonstrando que exercícios resistidos podem ser prescritos para pessoas com ou sem riscos cardiovasculares.

Em um estudo com atletas de natação por 18 semanas que avaliou o efeito agudo e crônico do exercício sobre a estabilidade de membrana eritrocitária mostrou que não houve alterações dos valores do índice de estabilidade osmótica de eritrócitos 1/H50 na primeira semana de treinamento, achados semelhantes encontrado em nosso estudo no qual não ocorreu alteração da estabilidade da

membrana eritrocitária nos treinos circuito e múltiplas series. Dados semelhantes foram encontrados no nosso estudo com o aumento nas atividades da CK e da lactato desidrogenase (LDH) após exercício⁴³.

Como $dA = A_{max} - A_{min}$, isso significa que o maior valor de dA de MP em relação a CA se deve a uma das seguintes possibilidades: aumento de A_{max} , diminuição de A_{min} ou ambos. Isso certamente se deve ao aumento de A_{max} , já que o A_{max} de MP foi maior que o de CA. Aparentemente A_{min} não teve efeito na variação de dA em relação à CA e MP. O valor de A_{max} está relacionado à quantidade de eritrócitos (RBC), de tal forma que, quanto maior a quantidade de eritrócitos, maior é o valor de A_{max} ¹³. Infelizmente, o estudo não tem disponível o valor de eritrócito. Entretanto, os dados de resistência osmótica sugerem que a quantidade de eritrócitos em MP é maior do que em CA.

O treinamento circuito e múltiplas series levou ao aumento das enzimas estudadas após os exercícios como encontrado nos estudos citados anteriormente. Alguns estudos avaliaram a estabilidade da membrana do eritrócito e as variações bioquímicas em indivíduos já em treinamento com indivíduos sedentários ou avaliaram o exercício aeróbico, mas nenhum estudo avaliou o antes e após o período de treinamento circuito e múltiplas series. Nosso estudo avaliou apenas uma sessão de treinamento sendo necessário novos estudos com mais sessões para verificar se podem ocorrer mais alterações na membrana eritrocitária.

CONCLUSÃO

O treinamento circuito e múltiplas series acarretou alterações na frequência cardíaca e nas enzimas indicadoras de lesão muscular com o aumento da CK – NAC, CK – MB, LDH, AST e ALT, o treino de múltiplas series demonstrou uma maior liberação das enzimas CK – NAC e CK- MB provavelmente pela maior intensidade desse treino. Houve poucas alterações dos índices da estabilidade de membrana eritrocitária sugerindo que o volume e a intensidade do treino de forma aguda podem interferir nessas alterações.

Conflitos de interesse

Os autores deste manuscrito declaram não haver nenhum tipo de conflitos de interesse envolvidos.

REFERÊNCIAS

1. Bird S, Tarpenning K, Marino F. Designing Resistance Training Programmes to Enhance Muscular Fitness. *Sports Medicine*. 2005;35(10):841-851.
2. Silva C, Gurjão A, Ferreira L, Gobbi L, Gobbi S. Efeito do treinamento com pesos, prescrito por zona de repetições máximas, na força muscular e composição corporal em idosas. *Revista Brasileira de Cineantropometria & Desempenho Humano*. 2006;8(4):39-45.
3. Haltom RW¹, Kraemer RR, Sloan RA, Hebert EP, Frank K, Tryniecki JL. Circuit weight training and its effects on excess postexercise oxygen consumption. *Med Sci Sports Exerc*. 1999 Nov;31(11):1613-8.
4. Bosco C, Colli R, Bonomi R, Von Duvillard S, Viru A. Monitoring strength training: neuromuscular and hormonal profile. *Med Sci Sports Exerc*. 2000;32:202-8.
5. Alemany, J. A., Delgado-Diaz, D. C., Mathews, H., Davis, J. M., & Kostek, M. C. Comparison of acute responses to isotonic or isokinetic eccentric muscle action: differential outcomes in skeletal muscle damage and implications for rehabilitation. *Int J Sports Med*. 2014; 35(1):1-7.
6. Brancaccio, P., Maffulli, N., & Limongelli, F. M. Creatine kinase monitoring in sport medicine. *Br Med Bull*. 2007;81-82:209-30. Epub 2007 Jun 14.
7. Garcia J J , Reiter R J , Guerrero J M , Escames G , Yu B P , Oh C S , Munoz-Hoyos A . Melatonin prevents changes in microsomal membrane fluidity during induced lipid peroxidation . *FEBS Lett*. 1997 May 26;408(3):297-300.
8. Stubbs C D , Smith A D . The modification of mammalian membrane polyunsaturated fatty acid composition in relation to membrane fluidity and function. *Biochim Biophys Acta*. 1984 Jan 27;779(1):89-137.
9. Berzosa C , Gomez-Trullen E M , Piedrafi ta E , Cebrian I , Martinez-Ballarín E , Miana-Mena F J , Fuentes-Broto L , Garcia J J . Erythrocyte membrane fluidity and indices of plasmatic oxidative damage after acute physical exercise in humans. *Eur J Appl Physiol*. 2011 Jun;111(6):1127-33
10. Garcia J J , Martinez-Ballarín E , Millan-Plano S , Allue J L , Albendea C , Fuentes L , Escanero J F . Effects of trace elements on membrane fluidity. *J Trace Elem Med Biol*. 2005;19(1):19-22..

11. de Freitas M V , Netto Rde C , da Costa Huss J C , de Souza T M , Costa J O , Firmino C B , Penha-Silva N . Influence of aqueous crude extracts of medicinal plants on the osmotic stability of human erythrocytes . *Toxicol In Vitro*. 2008 Feb;22(1):219-24.
12. Lemos GS D , Marquez-Bernardes L F , Arvelos L R , Paraíso L F , Penha-Silva N . Influence of glucose concentration on the membrane stability of human erythrocytes . *Cell Biochem Biophys*. 2011 Dec;61(3):531-7.
13. de Arvelos L R , Rocha V C , Felix G P , da Cunha C C , Bernardino Neto M , da Silva Garrote Filho M , de Fatima Pinheiro C , Resende E S , Penha-Silva N . Bivariate and multivariate analyses of the influence of blood variables of patients submitted to Roux-en-Y gastric bypass on the stability of erythrocyte membrane against the chaotropic action of ethanol. *J Membr Biol*. 2013 Mar;246(3):231-42.
14. de Freitas M V , de Oliveira M R , dos Santos D F , de Cassia Mascarenhas Netto R , Fenelon S B , Penha-Silva N . Influence of the use of statin on the stability of erythrocyte membranes in multiple sclerosis . *J Membr Biol*. 2010 Feb;233(1-3):127-34.
15. Brun J F . Exercise hemorheology as a three acts play with metabolic actors: Is it of clinical relevance? *Clin Hemorheol Microcirc*. 2002; 26(3) : p.155 – 174.
16. Brun J F , Khaled S , Raynaud E , Bouix D , Micallef J P , Orsetti A . The triphasic effects of exercise on blood rheology: which relevance to physiology and pathophysiology? *Clin Hemorheol Microcirc*. 1998 Oct;19(2):89-104.
17. Connes, P., Frank, S., Martin, C., Shin, S., Aufradet, E., Sunoo, S., Klara, B., Raynaud de Mauverger, E., Romana, M., Romana, M., Kang, J., Varlet-Marie, E., Feasson, L., Hardy-Dessources, M. D., Wilhelm, B., Brun, J. F. New fundamental and applied mechanisms in exercise hemorheology. *Clin Hemorheol Microcirc*. 2010;45(2-4), p. 131-141.
18. Yalcin, O., Erman, A., Muratli, S., Bor-Kucukatay, M., & Baskurt, O. K. Time course of hemorheological alterations after heavy anaerobic exercise in untrained human subjects. *J Appl Physiol* (1985),2003; 94(3), 997-1002.
19. Brun, J.F., Connes, P., Varlet-Marie, E. Alterations of blood rheology during and after exercise are both consequences and modifiers of body's adaptation to muscular activity. *Science & Sports*. 2007;22(6):251–266.

20. Copley, A. L. Fluid mechanics and biorheology. *Biorheology*, 27(1), 3-19, 1990.
21. Baskurt, O. K., Meiselman, H. J. Blood rheology and hemodynamics. *Semin Thromb Hemost.* 2003 Oct;29(5):435-50.
22. Thomis MA¹, Beunen GP, Maes HH, Blimkie CJ, Van Leemputte M, Claessens AL, Marchal G, Willems E, Vlietinck RF. Strength training: importance of genetic factors. *Medicine and Science in Sports and Exercise.* 1998;30(5):724-73.
23. Antônio Sá C, Edir Da Silva-Grigoletto M, Bisutti F, Silva Corralo V. Treinamento concomitante afeta o ganho de força, mas não a hipertrofia muscular e o desempenho de endurance. *Rev educ fis.* 2013;24(3):453 – 464.
24. Da Silva ME, Fernandez JM, Castillo E, Nuñez VM, Vaamonde DM, Poblador MS, Lancho JL.. Influence of Vibration Training on Energy Expenditure in Active Men. *J Strength Cond Res.* 2007;21(2):470.
25. Lemos GS D , Marquez-Bernardes L F , Arvelos L R , Paraíso L F , Penha-Silva N . Influence of glucose concentration on the membrane stability of human erythrocytes .*Cell Biochem Biophys* 2011 ; 61 : 531 – 537.
26. Mascarenhas Netto Rde C¹, Fabbri C, de Freitas MV, Bernardino Neto M, Garrote-Filho MS, Lacerda MV, Lima ES, Penha-Silva N. Influence of Plasmodium vivax malaria on the relations between the osmotic stability of human erythrocyte membrane and hematological and biochemical variables. *Parasitol Res.* 2014 Mar;113(3):863-74.
27. Paraiso LF, de Freitas MV, Gonçalves-E-Oliveira AF, de Almeida Neto OP, Pereira EA, Mascarenhas Netto RC, Cunha LM, Bernardino Neto M, de Agostini GG, Resende ES, Penha-Silva N. Influence of acute exercise on the osmotic stability of the human erythrocyte membrane. *Int J Sports Med.* 2014 Dec;35(13):1072-7.
28. Balnave CD, Thompson MW. Effect of training on eccentric exercise-induced muscle damage. *J Appl Physiol (1985).* 1993 Oct;75(4):1545-51.
29. Nosaka, K.;Newton,M. Repeated eccentric bouts do not exacerbate muscle damage and repair. *J Strength Cond Res.* 2002 Feb;16(1):117-22.
30. Nosaka, K; Newton, M; Sacco, P; Chapman, D; Lavender, A. Partial Protection against Muscle Damage by Eccentric Actions at Short Muscle Lengths. *Med Sci Sports Exerc.* 2005: 37 (5): 746-753.
31. Close GL¹, Kayani A, Vasilaki A, McArdle A. Skeletal muscle damage with exercise and aging. *Sports Med.* 2005;35(5):413-27.

32. Clarkson, P.M; Hubal, M.J. Exercise-induce Muscle Damage in Humans. *Am J Phys Med Rehabil.* 2002 Nov;81(11 Suppl):S52-69.
33. Bowers EJ, Morgan DL, Proske U.. Damage to the human quadriceps muscle from eccentric exercise and the training effect. *J Sports Sci.* 2004 Nov-Dec;22(11-12):1005-14.
34. Raastad, T.; Risoy, B. A.; Benestad, H.B.; Fjeld JG; Hallén J.Temporal relation between leukocyte accumulation in muscles and halted recovery 10-20 h after strength exercise. *J Appl Physiol.*2003;95(6):2503-2509.
35. Güzel, N. A., Hazar, S., & Erbas, D. Effects of Different Resistance Exercise Protocols on Nitric Oxide, Lipid Peroxidation and Creatine Kinase Activity in Sedentary Males. *Journal of Sports Science & Medicine*,2007 6(4), 417–422.
36. Hazar, M., Otağ, A., Otağ, İ., Sezen, M., & Sever, O. Effect of Increasing Maximal Aerobic Exercise on Serum Muscles Enzymes in Professional Field Hockey Players. *Global Journal of Health Science.*2015: 7(3), 69–74.
37. Marianne F. Baird, Scott M. Graham, Julien S. Baker, and Gordon F. Bickerstaff, “Creatine-Kinase- and Exercise-Related Muscle Damage Implications for Muscle Performance and Recovery,” *Journal of Nutrition and Metabolism*, vol. 2012, Article ID 960363, 13 pages, 2012.
38. Hemalatha, T., UmaMaheswar, T. I., Krithiga, G., Sankaranarayanan, P., & Puvanakrishnan, R. Enzymes in clinical medicine: an overview. *Indian J Exp Biol*,2013: 51(10), 777-788.
39. Uchida MC, Nosaka K, Ugrinowitsch C, Yamashita A, Martins E Jr, Moriscot AS, Aoki MS. Effect of bench press exercise intensity on muscle soreness and inflammatory mediators. *J Sports Sci.* 2009 Mar;27(5):499-507.
40. Neubauer O, König D, Wagner KH. Recovery after an Ironman triathlon: sustained inflammatory responses and muscular stress. *Eur J Appl Physiol.* 2008 Oct;104(3):417-26.
41. Polito, MD; Farinatti, PTV. Resposta da Frequência Cardíaca, Pressão Arterial e Duplo Produto ao Exercício Contra Resistência. *Revista Portuguesa de Ciências do Desporto.*2003;3(1): 79–91.
42. Efron MB. Effects of resistive training on left ventricular function.*Med Sci Sports Exerc.*1989;21(6):694-7.

43. Paraiso, L F. Efeito do exercício físico na estabilidade de membrana de eritrócitos. 2015. 124 f. Tese (Doutorado em Genética e Bioquímica) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2015.

VI. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Sendo alvo de tantas ações promovidas pela execução do exercício físico, a membrana dos eritrócitos e concentrações de creatina quinase total (CK-NAC), isoenzima miocárdica da creatina quinase (CK-MB), lactato desidrogenase (LDH), aspartato aminotransferase e (AST) alanina aminotransferase (ALT) podendo sofrer assim modificações. O mais interessante é investigar quais são os fatores que contribuem para promover alterações nas concentrações enzimáticas e na membrana do eritrócito e até que ponto isso melhora ou prejudica sua funcionalidade. Estudos a respeito das alterações nas propriedades da membrana em função da realização de exercício resistido são relativamente escassos, principalmente envolvendo a investigação da propriedade de estabilidade osmótica. Foi nesse sentido que o presente estudo foi desenvolvido, com o intuito de investigar o efeito agudo do exercício físico resistido na estabilidade osmótica de eritrócitos e nas concentrações enzimáticas.

VII. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Baskurt, O. K., Hardeman, M.R., Rampling, M.W., Meiselman, H.J. (2007). Handbook of Hemorheology and Hemodynamics. Amsterdam: IOS Press.
2. Smith, J. A. Exercise, training and red blood cell turnover. *Sports Med.*1995, 19(1), 9-31.
3. Gordon-Smith, T. Structure and function of red and white blood cells. *Medicine.*2013, 41(4), 193-199.
4. Mairbaur, H. Red blood cells in sports: effects of exercise and training on oxygen supply by red blood cells. *Front Physiol*,2013, 4, 332.
5. Gordon-Smith, T. Red blood cells. *Surgery*, 2007,25(2), 57-60.
6. Mohandas, N., & Gallagher, P. G. Red cell membrane: past, present, and future. *Blood*, 2008,112(10), 3939-3948.
7. Baskurt, O. K., & Meiselman, H. J. Blood rheology and hemodynamics. *Semin Thromb Hemost*,2003, 29(5), 435-450.
8. Rodwell, V., Botham, K.M., Kennelly,P.J., Rodwell, V.W. (2015). *Harper's Illustrated Biochemistry* (30th Ed. Paperback &dash ed.). United States: McGraw-Hill Medical.
9. Mohandas, N., & Evans, E. Mechanical properties of the red cell membrane in relation to molecular structure and genetic defects. *Annu Rev Biophys Biomol Struct*, 1994,23, 787-818.
10. Schroeder, F. Role of membrane lipid asymmetry in aging. *Neurobiol Aging*, 1984,5(4), 323-333.
11. Yeagle, P. L. Modulation of membrane function by cholesterol. *Biochimie*, 1991,73(10), 1303-1310.
12. Lague, P., Zuckermann, M. J., & Roux, B. Lipid-mediated interactions between intrinsic membrane proteins: dependence on protein size and lipid composition. *Biophys J*, 2001,81(1), 276-284.
13. Shiga, T., Maeda, N., Kon, K. Erythrocyte Rheology. *Oncology/Hematology*, 1990,10(1), 09-48.
14. An, X., & Mohandas, N. Disorders of red cell membrane. *Br J Haematol*, 2008,141(3), 367-375.

15. Nelson, D. L., & Cox, M. M. (2014). *Lehninger Principles of Biochemistry* (W. H. F. a. Company Ed. Sixth Edition ed.). New York.
16. Barthes-Biesel, D. (1996). *Advances in Hemodynamics and Hemorheology* (T. V. How Ed. Jai Press, INC Ed. Vol. 1). Connecticut.
17. Chasis, J. A., & Shohet, S. B. Red cell biochemical anatomy and membrane properties. *Annu Rev Physiol*, 1987 49, 237-248.
18. Bratosin, D., Mazurier, J., Tissier, J. P., Estaquier, J., Huart, J. J., Ameisen, J. C., Aminoff, D., Montreuil, J. Cellular and molecular mechanisms of senescent erythrocyte phagocytosis by macrophages. A review. *Biochimie*, 1998, 80(2), 173-195.
19. Chasis, J. A., & Mohandas, N. Erythrocyte membrane deformability and stability: two distinct membrane properties that are independently regulated by skeletal protein associations. *J Cell Biol*, 1986, 103(2), 343-350.
20. Chien, S. Red cell deformability and its relevance to blood flow. *Annu Rev Physiol*, 1987, 49, 177-192.
21. Stuart, J., & Nash, G. B. Red cell deformability and haematological disorders. *Blood Rev*, 1990, 4(3), 141-147.
22. Cooper, R. A. Abnormalities of cell-membrane fluidity in the pathogenesis of disease. *N Engl J Med*, 1977, 297(7), 371-377.
23. Cooper, R. A. Influence of increased membrane cholesterol on membrane fluidity and cell function in human red blood cells. *J Supramol Struct*, 1978, 8(4), 413-430.
24. Tsuda, K., Yoshikawa, A., Kimura, K., & Nishio, I. Effects of mild aerobic physical exercise on membrane fluidity of erythrocytes in essential hypertension. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2003, 30(5-6), 382-386.
25. El-Sayed, M. S., Ali, N., & El-Sayed Ali, Z. Haemorheology in exercise and training. *Sports Med*, 2005, 35(8), 649-670.
26. Walski, T., Chludzinska, L., Komorowska, M., & Witkiewicz, W. Individual osmotic fragility distribution: a new parameter for determination of the osmotic properties of human red blood cells. *Biomed Res Int*, 2014, 162102.
27. Penha-Silva, N., Firmino, C. B., de Freitas Reis, F. G., da Costa Huss, J. C., de Souza, T. M., de Freitas, M. V., & Netto, R. C. Influence of age on the stability of human erythrocyte membranes. *Mech Ageing Dev*, 2007, 128(7-8), 444-449.

28. Sowemimo-Coker, S. O. Red blood cell hemolysis during processing. *Transfus Med Rev*, 2000, 16(1), 46-60.
29. Bartosz, G. Erythrocyte aging: physical and chemical membrane changes. *Gerontology*, 1991, 37(1-3), 33-67.
30. de Arvelos, L. R., Rocha, V. C., Felix, G. P., da Cunha, C. C., Bernardino Neto, M., Garrote Filho, M. S., de Fátima Pinheiro C., Resende, E.S., Penha-Silva, N. Bivariate and multivariate analyses of the influence of blood variables of patients submitted to Roux-en-Y gastric bypass on the stability of erythrocyte membrane against the chaotropic action of ethanol. *J Membr Biol*, 2013, 246(3), 231-242.
31. Mascarenhas Netto Rde, C., Fabbri, C., de Freitas, M. V., Bernardino Neto, M., Garrote-Filho, M. S., Lacerda, M. V., Lima, E.S., Penha-Silva, N. Influence of Plasmodium vivax malaria on the relations between the osmotic stability of human erythrocyte membrane and hematological and biochemical variables. *Parasitol Res*, 2014, 113(3), 863-874.
32. de Freitas, M. V., Marquez-Bernardes, L. F., de Arvelos, L. R., Paraiso, L. F., Goncalves, E. Oliveira A. F., Mascarenhas Netto Rde, C., Neto, M.B., Garrote-Filho, M.S., de Souza, P.C., Penha-Silva, N. Influence of age on the correlations of hematological and biochemical variables with the stability of erythrocyte membrane in relation to sodium dodecyl sulfate. *Hematology*, 2014 19(7), 424-430.
33. Pribush, A., Hatskelzon, L., Kapelushnik, J., & Meyerstein, N. Osmotic swelling and hole formation in membranes of thalassemic and spherocytic erythrocytes. *Blood Cells Mol Dis*, 2003, 31(1), 43-47.
34. Paraiso, L. F., de Freitas, M. V., Goncalves, E. Oliveira A. F., de Almeida Neto, O. P., Pereira, E. A., Mascarenhas Netto, R. C., Cunha, L.M., Bernardino-Neto, M., de Agostini, G.G., Resende, E.S., Penha-Silva, N. Influence of acute exercise on the osmotic stability of the human erythrocyte membrane. *Int J Sports Med*, 2014, 35(13), 1072-1077.
35. Alemany, J. A., Delgado-Diaz, D. C., Mathews, H., Davis, J. M., & Kostek, M. C. Comparison of acute responses to isotonic or isokinetic eccentric muscle action: differential outcomes in skeletal muscle damage and implications for rehabilitation. *Int J Sports Med*, 2014, 35(1), 1-7.
36. Brancaccio, P., Maffulli, N., & Limongelli, F. M. Creatine kinase monitoring in sport medicine. *Br Med Bull*, 2007, 81-82, 209-230.

37. Motta, V.T. (2009). *Bioquímica Clínica para o Laboratório - Princípios e Interpretações* (Medbook Ed. 5 ed.). Rio de Janeiro.
38. Caspersen, C. J., Powell, K. E., & Christenson, G. M. Physical activity, exercise, and physical fitness: definitions and distinctions for health-related research. *Public Health Rep*, 1985,100(2), 126-131.
39. Winett, R.A.; Carpinelli, E.D. Potential health-related benefits of resistance training. *Preventive Medicine*, 2001,33,503-513.
40. Fleck, S.J.; Kraemer, W.J. *Fundamentos do treinamento de força muscular*. Porto Alegre: Artmed, vol.3. 2006.
41. Brun, J. F., Varlet-Marie, E., Romain, A. J., & Raynaud de Mauverger, E. Interrelationships among body composition, blood rheology and exercise performance. *Clin Hemorheol Microcirc*, 2011,49(1-4), 183-197.
42. Connes, P., Simmonds, M. J., Brun, J. F., & Baskurt, O. K. Exercise hemorheology: classical data, recent findings and unresolved issues. *Clin Hemorheol Microcirc*, 2013,53(1-2), 187-199.
43. Yalcin, O., Erman, A., Muratli, S., Bor-Kucukatay, M., & Baskurt, O. K. Time course of hemorheological alterations after heavy anaerobic exercise in untrained human subjects. *J Appl Physiol* (1985), 2003,94(3), 997-1002.
44. Brun, J.F., Connes, P., Varlet-Marie, E. Alterations of blood rheology during and after exercise are both consequences and modifiers of body's adaptation to muscular activity. *Science & Sports*. 2007;22(6):251–266.
45. Copley, A. L. Fluid mechanics and biorheology. *Biorheology*, 1990,27(1), 3-19.
46. Baskurt, O. K., Meiselman, H. J. Blood rheology and hemodynamics. *Semin Thromb Hemost*. 2003 Oct;29(5):435-50.
47. Paraiso, L F. Efeito do exercício físico na estabilidade de membrana de eritrócitos. 2015. 124 f. Tese (Doutorado em Genética e Bioquímica) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2015.
48. HOWLEY, E. T. Type of activity: resistance, aerobic and leisure versus occupational physical activity. *Med Sci Sports Exerc*,2001 Jun 33(6) Suppl, p. S364-9; discussion S419-20.

VII. ANEXOS

VII.1 Carta de Aceite



Journal of Human
JHGD
Growth and Development

ISSN: 0104-1282 / e-ISSN: 2175-3598

Dear authors Igor Sombra Silva, Mario da Silva Garrote Filho, Nilson Penha Silva, Miguel Junior Sordi Bortolini, Leticia Ramos de Arvelos, Romeu Paulo Martins Silva.

We are glad to inform that your manuscript "VARIÇÕES BIOQUÍMICA E DA ESTABILIDADE DE MEMBRANA ERITROCITARIA APÓS TREINO AGUDO RESISTIDO" was accepted for publication.

Sao Paulo, November 28th 2016.



Dr. Carlos Bandeira de Mello Monteiro
Executive Editor

Index: Latindex:- Index Psi Periódicos (BVS-Psi); - LILACS :
CLASE : Sociological Abstracts: Social Services Abstracts:
Linguistic & Language Behavior Abstracts: Worldwide
Political Science Abstracts: Qualis/Capes: Google Scholar:
CrossRef: DOAJ and Scopus



CDH