

**GUILHERME WEISS FRECCIA**

**EFEITOS DA CONDIÇÃO PRÉ-ISQUÊMICA SOBRE A CINÉTICA DO  
CONSUMO DE OXIGÊNIO EM DIFERENTES INTENSIDADES DE  
EXERCÍCIO.**

**FLORIANÓPOLIS – SC**

**2011**

**UNIVERSIDADE DO ESTADO DE SANTA CATARINA – UDESC**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE E DO ESPORTE – CEFID**

**GUILHERME WEISS FRECCIA**

**EFEITOS DA CONDIÇÃO PRÉ-ISQUÊMICA SOBRE A CINÉTICA DO  
CONSUMO DE OXIGÊNIO EM DIFERENTES INTENSIDADES DE  
EXERCÍCIO.**

Projeto apresentado como requisito parcial para a obtenção do título de mestre no Programa de Pós-Graduação em Ciências do Movimento Humano, do Centro de Ciências da Saúde e do Esporte – CEFID, da Universidade do Estado de Santa Catarina – UDESC.

Orientador: Prof. Dr. Fabrizio Caputo.

**FLORIANÓPOLIS-SC**

**2011**

# GUILHERME WEISS FRECCIA

## EFEITOS DA CONDIÇÃO PRÉ-ISQUÊMICA SOBRE A CINÉTICA DO CONSUMO DE OXIGÊNIO EM DIFERENTES INTENSIDADES DE EXERCÍCIO.

Dissertação apresentada ao programa de Pós-graduação / Mestrado em Ciências do Movimento Humano do Centro de Ciências da Saúde e do Esporte – CEFID, da Universidade do Estado de Santa Catarina – UDESC como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências do Movimento Humano.

### Banca Examinadora:

Orientador:

\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Fabrizio Caputo  
Universidade do Estado de Santa Catarina – UDESC

Membro:

\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Magnus Benetti  
Universidade do Estado de Santa Catarina – UDESC

Membro:

\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Luiz Guilherme Antonacci Guglielmo  
Universidade Federal Santa Catarina – UFSC

Membro:

\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Benedito Sérgio Denadai  
Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP

Florianópolis, SC, 23 de Fevereiro de 2011

## RESUMO

FRECCIA, G. W. Efeitos da condição pré-ischêmica sobre a cinética do consumo de oxigênio em diferentes intensidades de exercício. Dissertação. 2011. 73 f (Programa de Mestrado em Ciências do Movimento Humano, Área: Performance Humana) – Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC), Florianópolis, 2011.

O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos da condição pré-ischêmica (CPI) na cinética dos parâmetros ventilatórios em diferentes intensidades de exercício. Doze indivíduos ( $23,1 \pm 1,7$  anos;  $176,1 \pm 4,6$  cm;  $77,6 \pm 8,3$  kg;  $46,7 \pm 5,7 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ ) fisicamente ativos realizaram em 5 dias diferentes os seguintes testes em cicloergômetro de frenagem eletromagnética: 1) teste de carga incremental até exaustão voluntária para determinação das variáveis máximas (consumo máximo de oxigênio,  $\text{VO}_{2\text{máx}}$ ) e submáximas (Limiar Ventilatório, LV); 2) em dois dias diferentes duas repetições de exercício em carga constante (PCC) com 6min de duração em intensidade moderada a 80%LV intercalados com 30min de intervenção com o CPI (3x5min de oclusão/3x5 de reperfusão para cada coxa, de maneira intermitente e alternada); 3) em dois dias diferentes duas repetições de PCC de 6 min em intensidade severa correspondente a 70% do valor entre o  $\text{VO}_2$  no LV e o  $\text{VO}_{2\text{máx}}$  ( $70\% \Delta$ , i.e.  $\text{LV} + 0.7 \times (\text{VO}_{2\text{max}} - \text{LV})$ ) intercalados por 45min de repouso passivo seguidos do protocolo de CPI. Na carga moderada as variáveis que apresentaram diferença significativa da condição controle para a experimental foram: a constante de tempo do componente primário ( $t_1$ ) do  $\text{VCO}_2$  ( $43,4 \pm 10,4$ s para  $58,2 \pm 18,5$ s), a oxidação de carboidratos ( $1,43 \pm 0,32 \text{ g} \cdot \text{min}^{-1}$  para  $1,16 \pm 0,33 \text{ g} \cdot \text{min}^{-1}$ ) e a oxidação de gordura ( $0,27 \pm 0,12 \text{ g} \cdot \text{min}^{-1}$  para  $0,40 \pm 0,12 \text{ g} \cdot \text{min}^{-1}$ ). O  $t_1$  do  $\text{VO}_2$  ( $25,4 \pm 9$ s para  $21,2 \pm 6,6$ s) e o  $\text{VO}_2$  final ( $1689,1 \pm 291$  para  $1745,9 \pm 255,7 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ ) não apresentaram diferença significativa no domínio moderado. No domínio severo o CPI acelerou significativamente o  $t_1$  ( $19,2 \pm 3,3$ s para  $14,8 \pm 3,6$ s) e reduziu a concentração sanguínea final de lactato ( $7,48 \pm 2,58$  mM para  $7,01 \pm 2,20$ mM) não alterando a amplitude do componente lento ( $502,5 \pm 204,1$  para  $529,1 \pm 133,5 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ ) e o  $\text{VO}_2$  final ( $3406,5 \pm 474,4$  para  $3489,7 \pm 435,6 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ ). Podemos concluir que a cinética do componente primário do  $\text{VO}_2$  ( $t_1$ ) foi acelerada após o CPI no exercício severo, sem efeitos sobre a cinética do  $\text{VO}_2$  durante o exercício moderado, sugerindo que o principal efeito do CPI parece residir sobre o aumento da oferta de  $\text{O}_2$  induzida pelas modificações no fluxo sanguíneo, corroborando com a hipótese da limitação periférica (inércia oxidativa) como principal determinante na cinética do  $\text{VO}_2$  ao início do exercício moderado. No domínio moderado, o CPI aumentou a retenção de  $\text{CO}_2$  e conseqüentemente tornou mais lenta a cinética do  $\text{VCO}_2$  no músculo como conseqüência da diminuição de  $\text{HCO}_3^-$  pela isquemia, além disso, a alteração na oxidação de substratos observada durante o exercício subsequente o CPI provavelmente ocorreu pela maior oferta de AGL e ativação da  $\beta$ -oxidação induzidos pelos períodos de reperfusão.

**Palavras-chave:** Ciclismo,  $\text{VO}_{2\text{máx}}$ , Cinética do  $\text{VO}_2$ , Isquemia.



## ABSTRACT

FRECCIA, G. W. Preconditioning effects on the oxygen uptake kinetics at different exercise intensities. Dissertation. 2011. 73 f (Master Program in Human Sciences, Area: Human Performance) – State University of Santa Catarina (UDESC), Florianópolis, 2011.

The present study aimed to evaluate the effects of ischemic preconditioning (IPC) on the ventilatory parameters kinetics in different exercise intensities. Twelve physically active subjects ( $23.1 \pm 1.7$  years;  $176.1 \pm 4.6$  cm;  $77.6 \pm 8.3$  kg;  $46.7 \pm 5.7 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ ) underwent in 5 different days the following tests in an electronically braked cycle ergometer: 1) incremental exercise test until maximal voluntary exhaustion in order to determine maximal oxygen uptake ( $\text{VO}_{2\text{máx}}$ ), ventilatory threshold (VT). 2) two constant work rate bouts (CWR) of 6min at moderate intensity ( $80\% \text{VT}$ ) interspersed with 30 min of intervention with the IPC (3x5min occlusion/3x5min reperfusion for each thigh, performed intermittently and alternately) in two different days; 3) two repetitions of 6 min CWR in severe intensity corresponding to  $70\% \Delta$  (i.e.,  $\text{VT} + 0.7 \times (\text{VO}_{2\text{máx}} - \text{VT})$ ) interspersed by 45min passive rest followed by CPI, in two different days. IPC significantly decreased both the primary component time constant ( $t_1$ ) ( $19.2 \pm 3.3\text{s}$  to  $14.8 \pm 3.6\text{s}$ ) and carbohydrate oxidation ( $1.43 \pm 0.32 \text{ g} \cdot \text{min}^{-1}$  to  $1.16 \pm 0.33 \text{ g} \cdot \text{min}^{-1}$ ) and increased fat oxidation ( $0.27 \pm 0.12 \text{ g} \cdot \text{min}^{-1}$  to  $0.40 \pm 0.12 \text{ g} \cdot \text{min}^{-1}$ ) the for moderate intensity with the  $\text{VO}_2$   $t_1$  ( $25.4 \pm 9\text{s}$  to  $21.2 \pm 6.6\text{s}$ ) and end  $\text{VO}_2$  ( $1689.1 \pm 291$  para  $1745.9 \pm 255.7 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ ) did not differ significantly. In severe intensity IPC significantly reduced both  $t_1$  ( $19.2 \pm 3.3\text{s}$  to  $14.8 \pm 3.6\text{s}$ ;  $p < 0.05$ ) and end blood lactate concentration ( $7.48 \pm 2.58 \text{ mM}$  to  $7.01 \pm 2.20 \text{ mM}$ ,  $p < 0.05$ ), however the slow component amplitude ( $502.5 \pm 204.1$  to  $529.1 \pm 133.5 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ ) and end  $\text{VO}_2$  ( $3406.5 \pm 474.4$  to  $3489.7 \pm 435.6 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ ) of  $\text{VO}_2$  kinetics remain similar. We conclude that the primary component of  $\text{VO}_2$  kinetics was accelerated by IPC during severe exercise, but not during moderate exercise, suggesting that the main effect of IPC seems to be the increase on  $\text{O}_2$  delivery induced by a higher blood flow, which corroborate with the periphery limitation hypothesis (metabolic inertia) as the main limit factor for  $\text{VO}_2$  kinetics at the onset of moderate exercise. For moderate exercise, IPC increased the  $\text{CO}_2$  retention becoming the  $\text{VO}_2$  kinetics even slower because the decrease of  $\text{HCO}_3^-$  content by ischemia, furthermore, the changes on substrate oxidation observed during exercise after IPC might have occurred for reperfusion-induced increases in FFA delivery and  $\beta$ -oxidation pre-activation.

**Key-words:** Cycling;  $\text{VO}_{2\text{máx}}$ ;  $\text{VO}_2$  kinetics; Ischemia

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Parâmetros utilizados para descrever a cinética do $VO_2$ .....	11
Figura 2 Protocolo Progressivo .....	30
Figura 3 Protocolo de oclusão intermitente .....	31
Figura 4 Protocolo de carga constante em intensidade moderada .....	32
Figura 5 Protocolo de carga constante em intensidade severa.....	33
Figura 6 Resposta do $VO_2$ e $VCO_2$ em relação ao tempo com seus respectivos ajustes monoexponenciais durante exercício moderado.....	38
Figura 7 Cinética do $VO_2$ para o domínio severo .....	40
Figura 8 Médias $\pm$ DP das taxas de oxidação de carboidratos e de gordura nas diferentes condições.....	41

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 Características gerais dos sujeitos e variáveis máximas e submáximas do teste incremental com média, desvio padrão, valores mínimo e máximo (n=12). .....36
- Tabela 2 Média  $\pm$  DP dos parâmetros ventilatórios obtidos através do ajuste monoexponencial para os dados de  $VO_2$  e  $VCO_2$  no domínio moderado. ....37
- Tabela 3 Média  $\pm$  DP dos parâmetros ventilatórios obtidos pelo ajuste biexponencial individual para os dados de  $VO_2$  e  $VCO_2$  no domínio severo .....39



## LISTA DE ABREVIATURAS

ATP: Adenosina trifosfato

VO<sub>2</sub>: Consumo de oxigênio

VO<sub>2máx</sub>: Consumo máximo de oxigênio

τ<sub>1</sub>: Tau, constante de tempo do componente primário do ajuste

τ<sub>2</sub>: Tau, constante de tempo do componente secundário do ajuste

A<sub>1</sub>: Amplitude do componente primário do ajuste

A<sub>2</sub>: Amplitude do componente secundário do ajuste

y<sub>0</sub>: Valor de VO<sub>2</sub> de repouso ou, linha de base

LL: Limiar de lactato

LV: Limiar ventilatório

MLSS: Máxima fase estável de lactato

CPI: Condição pré-isquêmica ou oclusão intermitente de fluxo pré exercício

CK<sub>ATP</sub>: Canais de potássio sensíveis ao ATP

FC: Frequência cardíaca

PSE: Percepção subjetiva de esforço

[La]: Concentração sanguínea de lactato

PCr: Creatina fosfato

VE: Ventilação pulmonar

MRT: Tempo médio de resposta da cinética do VO<sub>2</sub>

ADP: Adenosina difosfato

EPOC: Consumo extra de oxigênio pós-exercício

TD<sub>1</sub>: Tempo de atraso do componente primário do ajuste

TD<sub>2</sub>: Tempo de atraso do componente secundário do ajuste

NO: Óxido nítrico

NOS: Óxido nítrico sintetase

AMP: Adenosina monofosfato

RL: Radicais livres

PCC: Protocolo de carga constante

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO .....	5
1.1 O PROBLEMA .....	5
1.2 OBJETIVOS.....	7
1.2.1 Objetivo Geral .....	7
1.2.2 Objetivos Específicos .....	8
1.3 JUSTIFICATIVA.....	8
2 REVISÃO DE LITERATURA .....	10
2.1 CINÉTICA DO CONSUMO DE OXIGÊNIO (VO <sub>2</sub> ).....	10
2.1.1 Parâmetros da Cinética do VO <sub>2</sub> .....	10
2.1.2 Exercício Prévio e Cinética do VO <sub>2</sub> .....	15
2.1.3 Controle Celular da Utilização de O <sub>2</sub> e Transferência de Energia .....	18
2.2 PRÉ-CONDICIONAMENTO ISQUÊMICO .....	22
2.2.1 Respostas fisiológicas à oclusão de fluxo sanguíneo .....	22
2.2.2 Respostas fisiológicas ao pré-condicionamento isquêmico .....	24
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	27
3.1 CARACTERIZAÇÃO DO ESTUDO.....	27
3.2 SUJEITOS DO ESTUDO .....	27
3.3 INSTRUMENTOS .....	27
3.4 COLETA DE DADOS.....	28
3.4.1 Procedimentos Preliminares:.....	28
3.4.2 Procedimentos Gerais.....	28
3.4.3 Preparação do Sujeito.....	29
3.4.4 Protocolo de determinação das variáveis máximas e submáximas. ....	30
3.4.5 Protocolos de carga constante em intensidade moderada.....	31
3.4.6 Protocolos de carga constante em intensidade severa. ....	32
3.5 ANÁLISE DOS DADOS .....	33
3.5.1 Análise da Cinética do VO <sub>2</sub> e VCO <sub>2</sub> .....	33
3.5.2 Análise das taxas de oxidação de substratos energéticos .....	34

3.5.3 Análise estatística .....	35
4 RESULTADOS .....	36
5 DISCUSSÃO .....	42
5.1 DOMÍNIO MODERADO .....	42
5.2 DOMÍNIO SEVERO .....	46
5.3 OXIDAÇÃO DE SUBSTRATOS.....	49
6 CONCLUSÃO.....	52
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	53
ANEXO I.....	68

## 1 INTRODUÇÃO

### 1.1 O PROBLEMA

O metabolismo oxidativo é a fonte predominante de restauração da adenosina trifosfato (ATP) durante o exercício físico com duração maior do que 70 segundos (GASTIN, 2001). Quanto maior a duração do exercício e/ou menor a intensidade de esforço, maior será a participação oxidativa como fonte de energia para os mecanismos envolvidos na contração muscular. No entanto, mesmo nas intensidades baixas de exercício na qual o metabolismo oxidativo é capaz de atender toda a demanda energética há, durante a transição repouso-exercício, produção não oxidativa de energia a fim de atender o custo energético do trabalho muscular neste período (TIMMONS et al., 1998). Isto se deve ao aumento abrupto na demanda energética durante a transição repouso-exercício, que não é acompanhado por suficiente alteração na taxa de ressíntese oxidativa de ATP.

Esta inércia do sistema aeróbio atrasa o atendimento da demanda energética pelo metabolismo oxidativo. A dinâmica destas alterações do metabolismo oxidativo no músculo ativo que levarão ao atendimento da demanda energética ou a sua potência máxima de produção de energia, pode ser bem descrita pela análise do consumo de oxigênio ( $VO_2$ ) em nível pulmonar (GRASSI et al., 1996). A análise pulmonar da cinética do  $VO_2$  fornece parâmetros que descrevem seu comportamento em função do tempo, como a taxa com que a produção aeróbia de energia se ajusta para atender a demanda energética no músculo ativo (Tau ou  $\tau$ ) (JONES; POOLE, 2005). Durante o exercício moderado (i.e., abaixo do limiar de lactato - LL) a cinética do  $VO_2$  apresenta um componente exponencial (componente primário) e posteriormente há manutenção de valores estáveis sobre o tempo (assíntota). Este comportamento pode ser bem descrito matematicamente por uma função monoexponencial. No entanto, nas intensidades acima do LL (i.e., domínio pesado e severo) a cinética do  $VO_2$  apresenta um componente adicional que emerge após o componente primário, que tem sido chamado de componente secundário ou componente lento. A descrição matemática do comportamento do  $VO_2$  nestas

intensidades pode ser feita por uma função bi-exponencial, que revela parâmetros separados do comportamento do componente primário e do secundário (GAESSER; POOLE, 1996; BARSTOW et al., 1996).

O conceito de domínios de intensidades de exercício (moderado, pesado e severo) é aplicável no sentido envolver dentro de um mesmo domínio, as intensidades que apresentarão respostas cardiorespiratórias e metabólicas semelhantes (GAESSER; POOLE, 1996; DENADAI; CAPUTO, 2003). O domínio moderado compreende as intensidades abaixo do LL, com a cinética do  $VO_2$  apresentando um comportamento que pode ser bem descrito por uma função monoexponencial. As intensidades acima do LL e abaixo da máxima fase estável de lactato sanguíneo (MLSS) compreendem o domínio pesado. Neste domínio há o desenvolvimento do componente lento ( $VO_2$  maior do que o predito pela relação  $VO_2$  vs. carga) que se estabiliza após aproximadamente 20 minutos de exercício e o  $VO_{2máx}$  não é atingido. O domínio severo envolve as intensidades acima da MLSS. Neste domínio o  $VO_2$  não se estabiliza sobre o tempo e o componente lento levará ao atendimento do  $VO_{2máx}$  quando o tempo de exercício não for demasiadamente curto (i.e. < 120s) (GAESSER; POOLE, 1996; CAPUTO; DENADAI, 2008).

Há bastante interesse teórico sobre o “passo” fisiológico que limita a taxa de aumento do  $VO_2$  (Tau) durante a transição repouso-exercício. Muitos estudos têm analisado os efeitos de diferentes intervenções sobre o Tau, tais como: manipulações hemodinâmicas, fármacos, velocidade e tipo de contração muscular, fração inspirada de  $O_2$ , treinamento físico, exercício prévio e tipo de exercício (HUGHSON et al., 1993; BARSTOW et al., 1996; WILLIAMSON et al., 1996; MCDONALD et al., 1997; ROSSITER et al., 2001; JONES et al., 2003b; CAPUTO; DENADAI, 2004; CAPUTO; DENADAI, 2006). Em geral, os efeitos promovidos por tais manipulações são dependentes do domínio de intensidade de exercício analisado (GERBINO et al., 1996; MACDONALD et al., 1997). Em especial, há poucos estudos que encontraram efeito do tratamento aplicado sobre o Tau durante exercício moderado em indivíduos considerados saudáveis (SCHEUERMANN et al., 2002; JONES et al., 2003b; GURD et al., 2005). Os dois primeiros estudos citados acima utilizaram o modelo de exercício prévio e mostraram redução do Tau com este tratamento. Ainda em relação ao efeito do exercício prévio, o mesmo tem demonstrado ser efetivo na redução do Tau e amplitude do componente lento em intensidades do domínio pesado (KOPPO et al., 2003; ROSSITER et al., 2001). No

domínio severo, foi também demonstrado um aumento no tempo de exaustão quando precedido por um exercício pesado de 6min (JONES et al., 2003c).

Um tratamento que tem sido utilizado para prevenir os danos causados por isquemia em músculo cardíaco e esquelético é o pré-condicionamento isquêmico (CPI), que consiste em realizar breves períodos de isquemia seguidos por reperfusão. Apesar de seus mecanismos fundamentais ainda não estarem completamente entendidos, adenosina e os canais de K sensíveis ao ATP ( $CK_{ATP}$ ) teriam um importante papel nos efeitos do CPI. Uma importante consequência da elevação nos níveis de adenosina e dos  $CK_{ATP}$  é uma maior vasodilatação. Além disso, os níveis de adenosina e canais  $CK_{ATP}$  são também responsáveis em ajustar o transporte de  $O_2$  e nutrientes para maior demanda metabólica durante o exercício. Recentemente, de Groot et al. (2010) demonstraram que o CPI aumentou a potência pico atingida em um teste incremental. Em adição aos efeitos do CPI no tônus vascular, tem sido demonstrado que este pode melhorar a função (LAWSON; DOWNEY, 1993) e o metabolismo muscular (PANG et al. 1995). Apesar de haver poucos estudos em humanos que analisaram o efeito de determinados tratamentos durante exercício moderado ou severo, os resultados sugerem que os fatores centrais (oferta de  $O_2$  - que envolve o fluxo sanguíneo, o conteúdo arterial de  $O_2$  e a distribuição intramuscular do fluxo) e os fatores periféricos (difusão de  $O_2$  para o tecido e o metabolismo mitocondrial) participam em diferentes proporções na limitação do Tau, dependendo do domínio de exercício (MACDONALD et al., 1997; GRASSI, 2003). Nesse sentido pode ser hipotetizado que o CPI por aumentar fluxo sanguíneo muscular (WESELCOUCH et al., 1993), melhorar o metabolismo (PANG et al., 1995) e função muscular (LAWSON; DOWNEY, 1993) poderá acelerar a resposta do  $VO_2$  ao início do exercício em diferentes intensidades, i.e. diminuir o Tau. Além dos fatores que fundamentam a hipótese apresentada, ainda não é conhecido qual seria o efeito do CPI sobre a cinética do  $VO_2$ .

## 1.2 OBJETIVOS

### 1.2.1 Objetivo Geral

Avaliar os efeitos agudos da oclusão intermitente de fluxo sanguíneo pré-exercício (condição pré-isquêmica) na cinética dos parâmetros ventilatórios em bicicleta ergométrica.

### 1.2.2 Objetivos Específicos

Comparar os efeitos da condição pré-isquêmica sobre a cinética do consumo de oxigênio ( $VO_2$ ) nas diferentes intensidades relativas do  $VO_{2máx}$  (domínios moderado e severo) em protocolos de carga constante;

Comparar os efeitos da condição pré-isquêmica sobre a cinética do volume de dióxido de carbono expirado ( $VCO_2$ ) nas diferentes intensidades relativas do  $VO_{2máx}$  (domínios moderado e severo) em protocolos de carga constante;

Comparar os efeitos da condição pré-isquêmica sobre as concentrações de lactato sanguíneo e oxidação de substratos (razão de troca respiratória, R) nas diferentes intensidades relativas do  $VO_{2máx}$  em protocolo de carga constante.

### 1.3 JUSTIFICATIVA

Recentemente tem sido demonstrado que o treinamento resistido em intensidades tão baixas quanto 20% de uma repetição máxima (1RM) efetivamente aumenta o tamanho (hipertrofia) e a força muscular em indivíduos não treinados quando combinado com uma moderada oclusão de fluxo sanguíneo (TAKARADA et al., 2000a,b). O treinamento resistido de intensidade moderada (20-50% de 1RM) com oclusão de fluxo sanguíneo também aumentou a força muscular e hipertrofia comparada ao treinamento resistido convencional realizado em intensidade pesada. Benefícios têm sido observados em treinamentos aeróbios de baixa intensidade realizados com restrição de fluxo sanguíneo. Abe et al. (2006) utilizando um treinamento de caminhada por 3 semanas encontrou aumentos no tamanho (4-7%) e na força muscular (7-10%). Por outro lado, Park et al. (2010) observaram aumentos no  $VO_{2máx}$  e na capacidade anaeróbia.

Apesar do crescimento no número de investigações a respeito dos efeitos crônicos da isquemia associada ou não com treinamento físico, pouco é conhecido sobre os efeitos agudos da condição isquêmica no músculo esquelético.

Recentemente, de Groot et al. (2010) demonstraram aumento na potência pico atingida em um teste incremental realizado após um protocolo de pré-condicionamento isquêmico (CPI), que consistiu de breves períodos de isquemia seguidos por reperfusão nas coxas. Os mecanismos envolvidos no CPI ainda permanecem desconhecidos, no entanto algumas evidências demonstram que CPI melhora a função (LAWSON; DOWNEY, 1993) e metabolismo muscular (PANG et al., 1995) em adição aos efeitos do CPI sobre o tônus vascular (WESELCOUCH et al., 1993). Como a cinética do  $VO_2$  ao início do exercício pode ser influenciada em diferentes proporções tanto por fatores centrais (aumento no fluxo sanguíneo local,  $QO_2$ ) quanto por fatores periféricos (metabolismo mitocondrial) dependendo da intensidade de exercício, um interessante modelo experimental seria comparar a cinética do  $VO_2$  em diferentes intensidades após um CPI. É provável que a utilização do CPI como condição experimental, o qual teria influencia tanto no fluxo sanguíneo quanto metabolismo muscular, possa alterar diferentemente a cinética do  $VO_2$  nas diferentes intensidades de exercício.

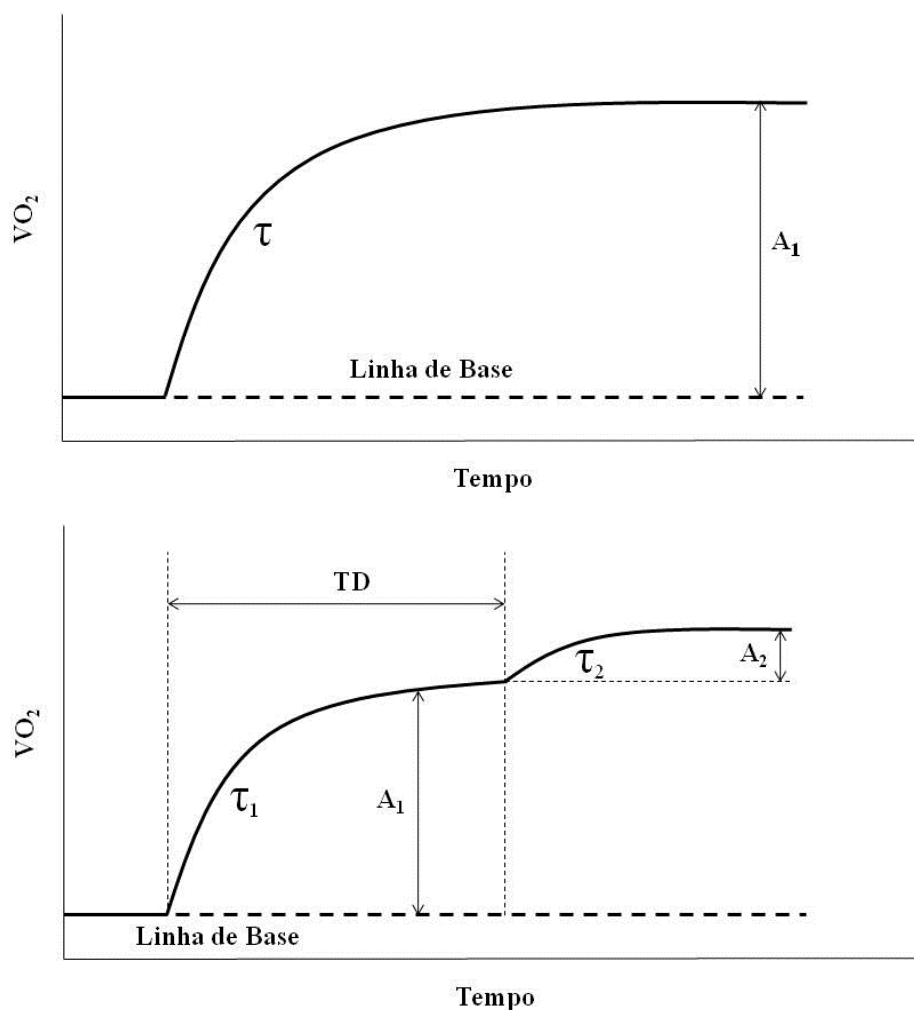


## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 CINÉTICA DO CONSUMO DE OXIGÊNIO ( $VO_2$ )

#### 2.1.1 Parâmetros da Cinética do $VO_2$

Há grande interesse sobre os aspectos fisiológicos relacionados/determinantes dos parâmetros da cinética do  $VO_2$ , principalmente o Tau do componente primário e as amplitudes dos componentes primário ( $A_1$ ) e lento ( $A_2$ ) (Figura 1). A redução da amplitude do componente lento e do Tau são benefícios que potencialmente melhoram a tolerância ao exercício (por meio da redução do déficit de  $O_2$ ) e podem ser conseguidos com algumas intervenções, como o exercício prévio e/ou treinamento aeróbio (FUKUOKA et al., 2002; CAPUTO et al., 2003; BURNLEY et al., 2005; CARTER et al., 2005; MURIAS et al., 2010). No entanto, as questões que mais têm recebido atenção são os fatores que limitam o Tau e os possíveis mecanismos que podem determinar o desenvolvimento do componente lento (WILLIAMSON et al., 1996; MACDONALD et al., 1997; GRASSI, 2003; KRUSTRUP et al., 2004a; KRUSTRUP et al., 2004b; WHIPP, 2007). Estes têm sido temas de muitos estudos que empregaram diferentes “tratamentos” a fim de testar hipóteses sobre a ocorrência de fenômenos fisiológicos que ainda são pouco entendidos e suas relações com os parâmetros da cinética do  $VO_2$ , como o padrão de recrutamento das fibras musculares e as diferenças *in vivo* nas propriedades dos diferentes tipos de fibras musculares (KRUSTRUP et al., 2004a).



**Figura 1** Parâmetros utilizados para descrever a cinética do  $VO_2$  Modelo monoexponencial (painel superior) e biexponencial (painel inferior).  $A_1$  amplitude do componente primário (rápido),  $A_2$  amplitude do componente secundário (lento),  $\tau$  (Tau) constante de tempo sendo o  $\tau_1$  do componente primário e  $\tau_2$  do componente secundário, TD tempo de atraso do componente primário ou tempo para o início do componente lento (com permissão de CAPUTO).

A investigação do fator limitante do Tau, ou seja, da taxa de aumento do  $VO_2$  durante a transição repouso-exercício é instigante, pois envolve um aspecto central (transporte de oxigênio) e um aspecto periférico (extração e utilização mitocondrial do  $O_2$ ) (HUGHSON et al., 2001). Experimentos em humanos e em animais têm sugerido que os aspectos “central” e “periférico” participam em diferentes proporções na determinação do Tau, dependendo principalmente do domínio do exercício em análise (MACDONALD et al., 1997; GRASSI, 2003; POOLE, 1994; FUKUBA et al., 2007).

No exercício moderado, o aumento da oferta de  $O_2$  (através da hiperóxia), não acelerou o Tau, sugerindo que neste domínio a inércia oxidativa do músculo ativo é

o fator limitante do Tau (MACDONALD et al., 1997). Na mesma direção da aceitação da hipótese da limitação periférica, um estudo recente (JONES et al 2003b), utilizando drogas que retiram a inibição da enzima mitocondrial citocromo C, verificou diminuição do Tau no domínio moderado. Apesar do estudo de TIMMONS et al. (1998) não ter medido o  $VO_2$ , a menor degradação de creatina fosfato (CP) com a utilização de uma droga que estimula a enzima piruvato desidrogenase, nos sugere que o Tau do  $VO_2$  pode ter sido acelerado no domínio moderado por meio deste tratamento. Em fibras musculares isoladas ambos os efeitos de estimular a PDH (HOWLETT et al., 2003) e inibir a CK (KINDIG et al., 2005) aceleraram a resposta do  $VO_2$  durante o exercício moderado. Por outro lado, a influência da oferta de  $O_2$  determinada principalmente pelo ajuste de fluxo na microcirculação sobre a resposta do  $VO_2$  não pode ser destacada, uma vez que Chin e outros (2010) através de alcalose hipocápnica (induzida por hiperventilação) e exercício prévio, e Muria e outros (2010) através do treinamento aeróbio observaram que em ambos os procedimentos a aceleração na cinética do  $VO_2$  estava relacionada a ajustes na microcirculação indicada por análises de espectroscopia de infra-vermelho.

O desenvolvimento do componente lento em intensidades maiores do que o LL, era atribuído ao aumento do lactato sanguíneo, da ventilação pulmonar (VE), da frequência cardíaca (FC), entre outros fatores (GAESSER; POOLE, 1996). Apesar dos primeiros autores que estudaram o componente lento já sugerirem que este comportamento do  $VO_2$  estaria relacionado ao recrutamento adicional de fibras musculares do tipo II, só recentemente foram obtidas reais evidências para se sustentar esta hipótese. KRUSTRUP et al. (2004b) em um interessante delineamento experimental, submetem os indivíduos que tiveram previamente suas fibras musculares tipo I seletivamente depletadas de glicogênio, a um exercício moderado de carga constante. Nestas condições, os indivíduos apresentaram maior recrutamento de fibras do tipo II e houve aparecimento do componente lento em uma intensidade moderada de exercício. Com método semelhante, porém depletando previamente o glicogênio das fibras musculares tipo II, Carter e outros (2004) observaram uma diminuição da amplitude do componente lento durante o exercício pesado nessa condição devido provavelmente ao menor recrutamento das fibras do tipo II nessa condição. Além disso, a amplitude do componente lento tem sido mostrada ser significativamente correlacionada com a proporção de fibras musculares do tipo II (BARSTOW et al., 1996). Apesar de vários procedimentos

experimentais indicarem uma possível associação entre o aumento no recrutamento de unidades motoras e o componente lento, Zoladz e outros (2005) demonstraram que um recrutamento progressivo das fibras musculares pode não ser necessário para o desenvolvimento do componente lento, o qual poderia ser causado por fatores metabólicos que induzem a fadiga e como conseqüência reduzem a eficiência da contração muscular. A medida do  $VO_2$  da musculatura ativa, também mostra que a maior parte (~90%) do componente lento da cinética do  $VO_2$  pulmonar tem origem neste local (POOLE, 1994), mostrando então a diminuta importância de fatores centrais como a VE e a FC. Mais recentemente, Krustup et al. (2008) testaram a hipótese de que a mudança no recrutamento de fibras, através de infusão arterial de um bloqueador neuromuscular não despolarizante (cisatracúrio), levaria a um maior consumo de oxigênio muscular e energético e a uma cinética mais lenta durante exercício de extensão de joelho em intensidade moderada. No grupo experimental (com infusão do bloqueador neuromuscular) o Tau da cinética de  $VO_2$  da coxa foi maior (55s) em relação ao grupo controle (33 s), com o tempo de atraso do componente fundamental apresentando-se relativamente menor no experimental. O ressumo total de ATP mostrou-se 19% maior no experimental em relação ao controle.

Existem poucos estudos longitudinais que analisaram o efeito do treinamento sobre os parâmetros da cinética do  $VO_2$ , particularmente nas intensidades moderadas (BABCOCK et al., 1994; PHILLIPS et al., 1995; BELL et al., 1999; CARTER et al., 2000; FUKUOKA et al., 2002; MURIAS et al., 2010). É evidente que indivíduos treinados possuem uma cinética do  $VO_2$  mais rápida (menor Tau) (PHILLIPS et al., 1995; FUKUOKA et al., 2002; CAPUTO; DENADAI, 2004; McNARRY et al., 2010; MARWOOD et al., 2010). No entanto, o Tau pode não discriminar os variados níveis de estado de treinamento aeróbio de indivíduos treinados (CARTER et al., 2000; FUKUOKA et al., 2002; FIGUEIRA et al., 2008).

O estudo de PHILLIPS et al. (1995) descreve bem a resposta do Tau e de outras variáveis metabólicas (atividade da enzima citrato sintase, concentração sanguínea de lactato e  $VO_{2max}$ ) em diferentes momentos (pré, 4<sup>o</sup> dia, 9<sup>o</sup> dia e 30<sup>o</sup> dia) do período de treinamento aeróbio aplicado (30 dias). No quarto dia de treinamento, o Tau já havia apresentado reduções, enquanto a atividade da enzima citrato sintase e o  $VO_{2max}$  só se mostraram alterados no trigésimo dia de treinamento.

Quando se analisam os resultados apresentados acima, em conjunto com os obtidos por FUKUOKA et al. (2002), que mostraram reduções no valor do Tau logo no período inicial (15 dias) do programa de treinamento aeróbio aplicado, mas que posteriormente o Tau permanece inalterado até o nonagésimo dia de treinamento, é possível sugerir que inicialmente o Tau responde ao treinamento aeróbio (redução do Tau). Todavia, há posteriormente uma estabilização em seus valores, embora o treinamento ainda continue promovendo adaptações cardio-respiratórias e musculares (PHILLIPS et al., 1995; CARTER et al., 2000; FUKUOKA et al., 2002). Encontrando resultados semelhantes aos supracitados, Muria et al. (2010) analisaram as mudanças sobre os parâmetros de cinética do  $VO_2$  e de oxigenação muscular local durante 12 semanas de treinamento aeróbio em mulheres jovens e idosas. Depois das 3 primeiras semanas de treinamento, a mudança no Tau para os dois grupos é significativa (redução de ~30-35%) e acompanhada por um “overshoot” na concentração de hemoglobina desoxigenada normalizada pelo  $VO_2$  ( $\Delta[HHb]/\Delta VO_2$ ), variáveis que se mostram atenuadas após essas primeiras semanas de treinamento.

O efeito do tipo de treinamento aplicado foi recentemente investigado por Berger e outros (2006). Os autores demonstraram que seis semanas de treinamento aeróbio contínuo de baixa intensidade e treinamento intervalado de alta intensidade foram igualmente efetivos em acelerar a cinética do  $VO_2$  durante o exercício moderado e severo em indivíduos previamente não treinados. Contrariando em parte estes resultados, Daussin e outros (2008) estudaram o treinamento contínuo e o intervalado e suas adaptações musculares e cardiorrespiratórias após 8 semanas em 11 sujeitos sedentários. Ocorreram mudanças significativas nos parâmetros relacionados a respiração mitocondrial e débito cardíaco apenas após o treinamento intervalado. Além disso, os autores encontraram uma redução no Tau (-19%) e um maior efeito do treinamento na tolerância ao exercício severo após o treinamento intervalado. Apesar de o estudo do grupo de Berger não ter observado diferenças na cinética do  $VO_2$  entre os tipos de treinamento, os resultados indicam que o treinamento intenso é mais efetivo em aumentar a tolerância ao exercício severo, e que esta melhora também está relacionada a uma aceleração na resposta do  $VO_2$ , reduzindo o déficit inicial de  $O_2$  e poupando reservas anaeróbias de energia (DEMARLE et al., 2001).

### 2.1.2 Exercício Prévio e Cinética do $\text{VO}_2$

A realização de exercício físico previamente a sessão principal de exercício, onde as medidas fisiológicas são feitas e comparadas à situação controle (sem exercício prévio), tem sido chamada de “exercício prévio”. Este modelo tem sido utilizado como forma de intervenção nos parâmetros da cinética do  $\text{VO}_2$  (JONES et al., 2003a).

É de conhecimento que após a realização de um exercício prévio, os sistemas fisiológicos se ajustam mais rapidamente no início do exercício subsequente (BANGSBO et al., 2001). Em relação aos determinantes da cinética do  $\text{VO}_2$ , o que inclui as hipóteses de limitação central e periférica, o principal efeito do exercício prévio parece ser o aumento da oferta central de  $\text{O}_2$  para o tecido ativo, mediado pelo fluxo sanguíneo aumentado, distribuição intramuscular mais homogênea do fluxo sanguíneo, maior recrutamento neuromuscular, maior ativação enzimática mitocondrial e pelo deslocamento da curva de dissociação da oxiemoglobina à direita (KRUSTRUP et al., 2001; BANGSBO et al., 2001; RICHARDSON et al., 2001; JONES et al., 2003<sup>a</sup>; GURD et al., 2009).

Entretanto, Gurd e demais autores (2005) analisando indivíduos adultos sedentários, encontraram pela primeira vez que o Tau em exercício moderado pode ser acelerado com a realização de exercício prévio pesado apenas no grupo que possuía valores mais elevados de Tau (i.e. cinética do  $\text{VO}_2$  mais lenta, Tau = 45s). Em idosos, já havia sido demonstrado por seu grupo (SCHEUERMANN et al., 2002), que o exercício prévio acelera o Tau neste domínio. Corroborando com os achados iniciais do grupo de Gurd (2005), Buchheit e outros (2009) também observaram um efeito do exercício prévio supramáximo nos indivíduos que possuíam uma moderada cinética do  $\text{VO}_2$  (tau = 21s), mas sem efeito naqueles que apresentavam uma rápida resposta do  $\text{VO}_2$  (tau = 13s) durante a corrida de moderada intensidade. Mais tarde, foi demonstrado que além de uma aceleração deste parâmetro neste domínio (para a mesma população), o exercício prévio de alta intensidade melhora o controle da fosforilação oxidativa, resultado de maior fornecimento de substratos oxidativos ( $\text{O}_2$ , Hemoglobina total e Oxiemoglobina elevadas, NADH, atividade da PDH elevada, ADP, menor PCr de repouso) (GURD et al., 2009). Estes resultados indicam que o efeito do exercício prévio sobre a cinética do  $\text{VO}_2$  parece ser dependente dos valores iniciais de Tau, em outras palavras, indivíduos que possuem uma rápida

cinética do  $\text{VO}_2$  terão pouco ou nenhum efeito do exercício prévio sobre a resposta do  $\text{VO}_2$ .

No domínio pesado, onde a limitação do Tau da fase dois parece ocorrer em função da oferta central de  $\text{O}_2$ , o exercício prévio pode ser uma maneira simples de aumentar esta oferta e potencialmente alterar a cinética do  $\text{VO}_2$  (MACDONALD et al., 1997; GRASSI, 2003; DeLOREY et al., 2007). Neste domínio, o exercício prévio tem aumentado a amplitude da fase dois, diminuído a amplitude do componente lento e acelerado a cinética geral do  $\text{VO}_2$  (esta última representada pelo tempo da resposta média - MRT – tempo para se atingir 63% do aumento do  $\text{VO}_2$  acima da linha de base) (GERBINO et al., 1996; BURNLEY et al., 2000; KOPPO et al., 2003; SAITOH et al., 2009). Todavia, o Tau da fase dois permanece inalterado, sendo a diminuição da amplitude do componente lento o fator responsável pela aceleração do MRT (BURNLEY et al., 2001). Do ponto de vista fisiológico, este comportamento da cinética do  $\text{VO}_2$  sugere que as fibras musculares que só iriam consumir  $\text{O}_2$  tardiamente, começam a extrair  $\text{O}_2$  um pouco mais cedo quando da realização do exercício prévio. A distribuição mais homogênea do fluxo sanguíneo intramuscular, diminuindo as regiões de anaerobiose e a alteração do padrão de recrutamento muscular, está entre as modificações que podem explicar estes efeitos (JONES et al., 2003<sup>a</sup>; DeLOREY et al., 2007).

Se o efeito do exercício prévio é sobre a oferta central de  $\text{O}_2$ , é possível que no domínio moderado, onde as pesquisas anteriores têm mostrado que a limitação parece ser periférica, o exercício prévio não promova efeitos sobre o Tau da cinética do  $\text{VO}_2$ . Neste sentido, os experimentos de GERBINO et al (1996) mostraram que a resposta do  $\text{VO}_2$  não foi alterada durante o exercício moderado pela realização de exercício prévio de intensidade pesada, resultado este também encontrado por outros autores (BURNLEY et al., 2000). Desta forma, poucos estudos continuaram investigando os potenciais efeitos do exercício prévio sobre os parâmetros da cinética do  $\text{VO}_2$  no domínio moderado.

Entretanto, GURD et al. (2005) analisando indivíduos adultos sedentários, encontraram pela primeira vez que o Tau em exercício moderado pode ser acelerado com a realização de exercício prévio pesado neste tipo de população. Em idosos, já havia sido demonstrado por seu grupo (SCHEUERMANN et al., 2002), que o exercício prévio acelera o Tau neste domínio. Mais tarde (GURD et al., 2009), foi demonstrado que, além de uma aceleração deste parâmetro neste domínio (para

a mesma população), o exercício prévio de alta intensidade melhora o controle da fosforilação oxidativa, resultado de maior fornecimento de substratos oxidativos ( $O_2$ , Hemoglobina total e Oxiemoglobina elevadas, NADH, atividade da PDH elevada, ADP, menor PCr de repouso).

As relações entre alteração do Tau e  $VO_{2max}$  reportadas por GURD et al. (2005), assim como os resultados de outros estudos (SCHEUERMANN et al., 2002), sugerem que o nível de aptidão aeróbia possa interferir sobre os efeitos do exercício prévio no exercício moderado subsequente. Isto poderia iniciar uma questão sobre a adequação das teorias de limitação central e periférica em indivíduos com diferentes níveis de aptidão aeróbia durante o exercício moderado. De qualquer modo, não é possível afastar a possibilidade de o exercício prévio promover alterações periféricas, e que estas alterações sejam as responsáveis pela aceleração da cinética do  $VO_2$  encontrada nos dois estudos citados acima. Isto pode ser evidenciado quando se verifica que a mesma população idosa que tem o Tau reduzido pelo exercício prévio (SCHEUERMANN et al., 2002), não mostra modificações na cinética do  $VO_2$  no exercício moderado em condição de hiperóxia (fração inspirada de  $O_2$  de 75%), condição esta que aumenta o conteúdo arterial de  $O_2$  e provavelmente sua oferta ao tecido ativo (BELL et al., 1999).

É difícil apontar com exatidão o processo celular que determina a inércia do metabolismo oxidativo. Algumas manipulações como a estimulação farmacológica da enzima piruvato desidrogenase, com conseqüente aumento dos estoques de Acetil-Carnitina, não afetaram a cinética do  $VO_2$  no domínio moderado (BANGSBO et al., 2002; KOPPO et al., 2004). Em um estudo recente, JONES et al. (2003b) utilizaram uma droga que retira a inibição da enzima citocromo C presente na cadeia respiratória, encontrando redução do Tau no domínio moderado.

A utilização de exercício prévio com um grupamento muscular diferente é uma maneira de minimizar os efeitos periféricos do exercício prévio. No domínio pesado, este tratamento tem mostrado efeitos no componente lento em menor magnitude quando comparados ao exercício prévio com o mesmo grupamento muscular (KOPPO et al., 2003), ou até mesmo a ausência de efeitos (FUKUBA et al., 2002). No entanto, por motivos óbvios (é preciso encontrar primeiramente que a execução de exercício prévio com o mesmo grupamento muscular produz efeitos sobre a resposta do  $VO_2$ ), não há estudos que utilizaram este modelo e exercício moderado subsequente.



Baseado em testes de performance após a realização de aquecimentos que se assemelham às características dos exercícios prévios comumente utilizados como forma de intervenção na cinética do  $VO_2$ , é improvável que este tipo de intervenção promova algum tipo de prejuízo a função celular durante o exercício subsequente (BURNLEY et al., 2005), já que eles têm se mostrado até mesmo ergogênicos (JONES et al., 2003c).

Recentemente Bailey e outros (2009) demonstraram que uma combinação apropriada entre exercício prévio e duração da sua recuperação permite uma aceleração na cinética do  $VO_2$  durante exercício severo subsequente. Segundo os autores esta aceleração é resultado da redução da amplitude do componente lento. Neste mesmo estudo foi também demonstrado que a cinética do  $VO_2$  não são alteradas se o exercício prévio não é intenso suficiente (acima de  $40\% \Delta$ ) ou se a recuperação é muito longa (acima de 9min), comparados ao grande efeito na aceleração da cinética do  $VO_2$  quando exercício prévio de alta intensidade ( $70\% \Delta$ ) é seguido de um curto intervalo de recuperação (3min), com ainda um menor mais significativo efeito quando o exercício é realizado até 20min após o exercício prévio a  $70\% \Delta$  (BAILEY et al., 2009). Além disso, os autores demonstram um maior aumento na tolerância ao exercício ( $T_{lim}$ ) realizado 20min após o exercício prévio a  $70\% \Delta$ , sugerindo que as alterações no recrutamento de unidades motoras possuem uma longa latência e que associadas ao aumento da atividade enzimática na cadeia respiratória seriam responsáveis pelos efeitos do exercício prévio na cinética do  $VO_2$  e na performance durante o exercício subsequente em indivíduos fisicamente ativos.

### 2.1.3 Controle Celular da Utilização de $O_2$ e Transferência de Energia

Vários estudos em animais e em humanos têm extensivamente mostrado que a musculatura esquelética treinada apresenta várias adaptações bioquímicas e morfológicas em decorrência do exercício físico crônico (GOLLNICK et al., 1990). De um modo geral, estas adaptações objetivam atender a alta demanda de ATP durante o exercício físico. Como a mitocôndria é a organela celular na qual a ressíntese oxidativa de ATP acontece, muito dos experimentos se dedicaram em elucidar os efeitos do treinamento aeróbio sobre a função mitocondrial.

Alguns aspectos dos efeitos do treinamento estão bem esclarecidos, como o aumento do número e do tamanho das mitocôndrias e o aumento da atividade das enzimas mitocondriais envolvidas no metabolismo energético (BROOKS et al., 2004). Outro aspecto de grande interesse teórico/prático é a importância da função mitocondrial na explicação das diferenças na eficiência mecânica (trabalho mecânico produzido/gasto energético) encontradas entre indivíduos, principalmente entre os indivíduos treinados ou não aerobiamente (MOGENSEN et al., 2006). Uma outra questão que permanece muito obscura é sobre os mecanismos celulares que determinam a eficiência metabólica (ATP:unidade de trabalho produzido).

Estas questões são de importância muito grande, pois quando encontramos diferentes eficiências mecânicas, não é possível detalhar o mecanismo bioenergético presente na célula muscular potencialmente envolvido nisto. A relação entre consumo mitocondrial de  $O_2$  e ressíntese de ATP (chamada de “relação P:O”) para um dado substrato energético e a relação entre a renovação de ATP e o trabalho mecânico (eficiência metabólica), são dois “passos” importantes na determinação da eficiência mecânica (MOGENSEN et al., 2006). Há pouca informação a respeito da importância destes aspectos mitocondriais no entendimento do metabolismo energético durante o exercício físico *in vivo* e em variadas condições fisiológicas.

Recentemente, MOGENSEN et al. (2006) mostraram que a eficiência mitocondrial (P:O) não se correlaciona com as medidas de eficiência mecânica durante o ciclismo (eficiência de trabalho ou delta). Adicionalmente, seus achados reforçaram dados já previamente existentes (MOGENSEN; SAHLIN, 2005) que indicam que a relação P:O não é dependente do tipo de fibra muscular. Estes resultados sugerem que a eficiência mitocondrial não explica as diferenças interindividuais da eficiência mecânica.

É sabido que a relação P:O e a eficiência metabólica são variáveis que podem se modificar na condição de elevação de temperatura tecidual e isquemia da musculatura ativa, respectivamente (BROOKS et al., 1971; KRUSTRUP et al., 2003). Outros fatores que influenciam a energia liberada na hidrólise do ATP e potencialmente a eficiência metabólica, são o tipo de ATPase da cabeça da miosina e a temperatura tecidual (CURTIN; WOLEDGE, 1978; COOKE et al., 1988). Apesar destes autores também argüirem que a concentração de  $H^+$  e outros metabólitos também influenciarão na eficiência metabólica, BANGSBO et al. (1996) não

encontraram diferença na eficiência metabólica em níveis distintos de  $H^+$  intracelular em humanos.

Até o momento, o conjunto de informações obtidas pelos estudos realizados *in vitro*, indica que do ponto de vista fisiológico, a composição das fibras musculares ainda é um importante determinante da eficiência mecânica (MOGENSEN et al., 2006; BARSTOW et al., 1996), provavelmente em função da maior energia liberada na hidrólise do ATP na cabeça da miosina isoforma I (maior eficiência metabólica) (HAN et al., 2003) e que, a eficiência mitocondrial (P:O) não exerce importante influência sobre a eficiência mecânica. Porém, é sensato não descartar totalmente a possibilidade da eficiência mitocondrial exercer algum papel sobre as diferenças na transferência de energia *in vivo* nas diversas condições de exercício.

Tonkonogi et al. (1999) mostram que uma sessão de exercício prévio supramáximo não altera a eficiência e a capacidade aeróbia mitocondrial, indicadas pela P:O e taxa máxima de ressíntese de ATP. Entretanto, a sensibilidade mitocondrial ao ADP como estímulo à respiração foi reduzida. O padrão da utilização celular de  $O_2$  durante a transição repouso-exercício parece ser dependente da presença de estimuladores, principalmente o ADP, já que o maior acúmulo de ADP neste período aceleraria a utilização de  $O_2$  (KINDIG et al., 2005). Se *in vivo* estes mecanismos não forem compensados de alguma forma, pode ser então, que o exercício prévio supramáximo reduza a velocidade de adaptação do  $VO_2$  no início do exercício subsequente. Todavia, não há dados na literatura que verificaram o efeito do exercício prévio supramáximo sobre a cinética do  $VO_2$ .

A importância da função mitocondrial na manutenção da concentração citoplasmática de  $Ca^{++}$  ( $[Ca^{++}]_c$ ) constante tem sido estudada há tempos (NICHOLLS, 2005). Tentando explicar os possíveis mecanismos envolvidos no consumo excessivo de  $O_2$  após o exercício (EPOC), alguns autores têm atribuído uma parcela do EPOC a absorção mitocondrial de cálcio (BROOKS et al., 2004). Quando a  $[Ca^{++}]_c$  está aumentada, a mitocôndria absorve cálcio e o estoca como cálcio livre e cálcio ligado ao fosfato; o processo de transporte deste cálcio novamente ao citoplasma é ativo e gasta ATP (NICHOLLS, 2005).

A presença de cálcio na matriz mitocondrial também é um importante estímulo a várias enzimas do ciclo de Krebs (NICHOLLS, 2005), além de, aparentemente antagônico, ser um provável desacoplador da fosforilação oxidativa (BROOKS et al., 2004). Deste modo, as situações que levam a mitocôndria a acumular cálcio

provavelmente levarão também a um aumento da demanda celular de ATP e conseqüentemente por O<sub>2</sub>. No entanto, nada se sabe sobre o efeito do estado de treinamento, que sabidamente altera a densidade mitocondrial, neste interessante mecanismo mitocondrial de tamponamento do cálcio citoplasmático.

Uma informação que adiciona interesse nesta questão do estado de treinamento vs. função mitocondrial, é que as mitocôndrias presentes nas fibras do tipo I, absorvem mais cálcio citoplasmático quando comparada as de fibras do tipo II, quando este está aumentado (SEMBROWICH et al., 1985). Como um dos conhecidos efeitos do treinamento aeróbio é fazer com que fibras não essencialmente do tipo I passem a apresentar características de fibras oxidativas, é possível hipotetizar que indivíduos treinados tenham um gasto energético adicional maior quando a  $[Ca^{++}]_c$  está aumentada.

Estes aspectos discutidos acima são importantes, entretanto eles são geralmente determinados *in vitro* sob procedimentos complexos e seus resultados não totalmente extensíveis ao entendimento dos fenômenos *in vivo*. Em função disto, a calorimetria indireta ainda é a metodologia utilizada mais comumente para a investigação de variáveis bioenergéticas durante o exercício físico, como as inferências sobre a contribuição dos diferentes sistemas energéticos e as medidas de eficiência mecânica (GASTIN, 1998; MOGENSEN et al., 2006).

De fato, a calorimetria indireta é uma medida sistêmica e pode ser considerada grosseira se o objetivo for o entendimento de mecanismos fisiológicos em nível celular. Porém, as medidas de eficiência mecânica por calorimetria indireta têm se mostrado útil como índice de aptidão aeróbia, ou seja, ela constitui um índice que pode explicar diferenças na performance aeróbia (COYLE, 2006). Em geral, o treinamento aeróbio fará o indivíduo gastar menos energia química para produzir o mesmo trabalho mecânico externo (no ciclismo esta variável é chamada de eficiência bruta) (COYLE, 2005). Com base nas discussões anteriores, os fatores que provavelmente intermedeiam tal evolução com o treinamento são: VE, FC, padrão de recrutamento muscular e eficiência metabólica. Dentre estes, apenas o último é de fato um aspecto metabólico celular da musculatura ativa e de difícil acesso.

Estes fatores discutidos nesta sessão podem ser importantes no entendimento da resposta “*off*” (respostas fisiológicas após esforço) após exercícios de alta intensidade e conseqüentemente no entendimento das respostas

metabólicas no exercício subsequente. Além disto, o valor da assíntota do  $VO_2$  durante exercícios de intensidade moderada, representa o custo de  $O_2$  da atividade com estreita relação com a eficiência mecânica (MALLORY et al., 2002).

## 2.2 PRÉ-CONDICIONAMENTO ISQUÊMICO

### 2.2.1 Respostas fisiológicas à oclusão de fluxo sanguíneo

O estresse mecânico sobre o músculo desempenha importante papel na manutenção e/ou aumento de tamanho e força musculares. Há pouco mais de uma década começam alguns estudos mostrando aumento dessas valências, com a combinação de exercício resistido de baixa intensidade (20~50% de 1 RM) e restrição de fluxo sanguíneo (SHINOHARA et al., 1998; TAKARADA et al., 2000). No entanto, os efeitos da restrição de fluxo sanguíneo sobre o músculo esquelético são estudados nos campos da fisiologia do exercício há pelo menos cinco décadas, e da medicina (estudos da restrição nos diversos órgãos com abordagem anatômica e fisiológica) há pelo menos três décadas.

No campo da fisiologia, a primeira demonstração de respostas fisiológicas à oclusão de fluxo foi feita por Fales et al. (1962), em cachorros. Os pesquisadores sugeriram que, após a diminuição do consumo de oxigênio muscular pela oclusão venosa parcial, acontece pequena hiperemia e reposição do débito de oxigênio após a liberação do fluxo, diferente da oclusão arterial completa, onde os mesmos fenômenos ocorrem já com o fluxo obstruído devido à diminuição da resistência sanguínea com a parede arterial dilatada, distal à porção ocluída.

Em 1976, Chiu e colaboradores demonstraram elevação da concentração sérica de fosfocreatina quinase (CPK) após processo de isquemia seguido de reperfusão com torniquete pneumático em cachorros. Já em 1979, Larsson e Hultman demonstraram moderadas reduções no ATP muscular e fosfocreatina (PCr) com aumento de ADP e AMP musculares junto com concentrações significantes de lactato no sangue e nos músculos durante a oclusão do fluxo no quadríceps de humanos.

A restrição de fluxo sanguíneo pode levar a adaptações neuromusculares variadas. Moritani et al. (1992) demonstraram significantes aumentos na taxa de disparo e no pico de amplitude das unidades motoras durante contrações musculares repetidas a 20% 1 RM com fluxo sanguíneo obstruído. Moore et al. (2004) reportaram que o treinamento (8 semanas de flexão unilateral de cotovelo) a 50% 1 RM com oclusão de fluxo sanguíneo é o bastante para aumentar o torque isométrico e o potencial pós-ativação, o que provavelmente aumenta a resposta do músculo ao cálcio.

Tem sido demonstrado que durante contrações musculares sustentadas em exercício resistido de baixa intensidade (15-20% da máxima contração voluntária) o fluxo sanguíneo é restringido e as fibras do tipo II depletam o glicogênio (Vollestand et al., 1984). Os pesquisadores concluem que a disponibilidade de oxigênio pode afetar no recrutamento de unidades motoras grandes.

A disponibilidade de oxigênio para a porção muscular que está sendo recrutada no exercício tem sua importância nos processos metabólicos de produção de energia. A capacidade de produção de energia pelas vias anaeróbias é limitada em humanos, tornando as vias aeróbias essenciais se for necessária a continuidade na produção de trabalho. Já foi demonstrado claramente que a taxa de quebra de PCr é maior no músculo exercitado com a oclusão de fluxo em relação ao músculo exercitado sem a oclusão (YOSHIDA e WATARI, 1997).

A recuperação do exercício envolve a restauração das perturbações iônicas e metabólicas decorrentes da contração muscular. Sob condições aeróbias o processo de recuperação é paralelo à ressíntese de ATP muscular, evidenciado pelo consumo de oxigênio pós exercício (EPOC) elevado. Em condições anaeróbias, essa ressíntese de ATP aparece de maneira lenta, com a ressíntese de PCr ausente (YOSHIDA e WATARI, 1997; QUISTORFF, JOHANSEN e SAHLIN, 1992).

Outros compostos metabólicos também apresentam alteração significativa com a restrição de fluxo sanguíneo. Burgomaster et al. (2003) submeteram indivíduos fisicamente ativos à 8 semanas de treinamento resistido (~50% 1 RM) para bíceps braquial em ambos os braços, um com restrição de fluxo sanguíneo e outro sem. A análise das biópsias musculares mostrou que após o período de treinamento as concentrações de glicogênio muscular e de ATP apresentam modificações mais significantes no braço que recebeu a oclusão, com a primeira aumentada e a segunda diminuída, respectivamente. Outros estudos mostram

também ativação de transporte de glicose para músculo aumentando a concentração de GLUT-4 em condições de hipóxia (CARTEE et al., 1991).

### 2.2.2 Respostas fisiológicas ao pré-condicionamento isquêmico

A CPI é conhecida por seus efeitos protetores sobre a célula cardíaca, aumentando a habilidade do coração em tolerar períodos prolongados de condição isquêmica (e.g. infarto do miocárdio). O termo foi primeiramente descrito por Murry et al. (1986). Estes pesquisadores constataram em cachorros anestesiados, uma redução significativa no infarto miocárdico quando submetidos a 4 breves episódios de 5 minutos de isquemia separados por 5 minutos de reperfusão, pouco antes de oclusão de 40 minutos (simulação de infarto). Desde sua descoberta, esse modelo já foi descrito em ratos (LI et al., 1990; LIU E DOWNEY, 1992), coelhos (LIU et al., 1992; MIURA et al., 1993) e porcos (SCHOTT et al., 1990; VAHLHAUS et al., 1993), além de miócitos humanos isolados (IKONOMIDIS et al., 1994) e também tecido muscular (WALKER et al., 1995). No entanto, os estudos mais promissores foram realizados em corações humanos in-vivo (DEUTSCH et al., 1990; CRIBIER et al., 1992; YELLON et al., 1993).

O mecanismo completo dos efeitos protetivos da CPI ainda não é completamente conhecido, mas é sabido que este fenômeno não envolve a abertura de veias colaterais (MURRY et al., 1986) e tampouco a síntese de proteínas protetoras (THORNTON et al., 1990).

O papel da adenosina (importante neuromodulador do sistema nervoso central) como forte candidata a mediadora da CPI começa a ser explorado devido a suas propriedades cardioprotetoras e sua liberação por miócitos em isquemia (MILLER et al., 1979). Liu et al. (1991), foram os primeiros a esclarecer esse papel. Os autores, examinando o efeito do pré tratamento com bloqueadores do receptor de adenosina sobre o tamanho do infarto em ratos, concluíram que a adenosina liberada durante a CPI, estimula os receptores cardíacos A<sub>1</sub>, protegendo o coração do infarto. Os pesquisadores também realizaram 5 minutos de intransfusão intracoronariana de adenosina, resultando em proteção efetiva contra isquemia induzida (45 minutos), com essa proteção diminuindo quando reduzida a concentração coronária da droga.

Hoje, sabe-se que durante a hipoperfusão (isquemia) miocárdica a adenosina pode aumentar a oferta de oxigênio dilatando os vasos de resistência e diminuindo a inotropia, o que diminui a demanda de oxigênio para o miocárdio. Os efeitos cardíacos da adenosina são diferentemente mediados pela família de receptores, A1, A2 e A3. O bloqueio da adenosina A1 e A3, diminui quase completamente o efeito da pré condição em coelhos (LIU et al., 1992). A estimulação do receptor adenosina A1 aumenta a tolerância do miocárdio contra a lesão isquêmica (THORNTON et al., 1992). Há ainda, evidências de que os canais de potássio estão envolvidos na mediação dos efeitos da adenosina.

Além da adenosina, outros estimuladores da CPI, receptor-dependentes, são condicionantes do fenômeno, tais como: os receptores opióides, principalmente o tipo  $\delta$  (SCHULTZ et al., 1995) e a bradicinina (SCHULZ et al., 1998), que possivelmente atue sinergicamente à adenosina como estímulo da CPI. Prostaglandinas, norepinefrina, angiotensina e endotelina não parecem exercer efeitos significantes durante a CPI (EISEN et al., 2004).

Alguns estimuladores receptor-independentes apresentam papéis importantes no fenômeno da CPI. A função do NO endógeno ainda não é muito conhecida e não é considerado um estimulador ou um “gatilho” da CPI (NAKANO et al., 2000), mas sabe-se que o bloqueio da NOS diminui os efeitos da CPI em ratos (LOCHNER et al. 2000). Durante a isquemia, a quantidade de radicais livres (RL) aumenta nos miócitos, alterando sua integridade e aumentando sua fluidez e permeabilidade, agindo como estimulador da CPI (DAS et al., 1999). O mecanismo de ação frente à CPI ainda não é totalmente esclarecedor, mas é notável que os RL possam ativar: as proteínas-G (NISHIDA et al., 2000), um importante segundo mensageiro da transmissão neural; as proteínas-cinases (BHATNAGAR et al., 1990) e os  $CK_{ATP}$  (TOKUBE et al., 1996).

O efeito protetivo da CPI é provavelmente devido a mediadores intracelulares, compreendendo dois tipos principais: os  $CK_{ATP}$  e uma forma específica da proteína quinase C (PQC).

Existem dois tipos distintos de canais  $CK_{ATP}$ , na mitocôndria e no sarcolema. Os  $CK_{ATP}$  abrem sempre que os níveis de ATP caem, como acontece durante períodos de isquemia. No sarcolema esses canais podem ser bloqueados por inibidores como a glibenclamida (Sulfonilurías) e 5-hidroxidecanoato. Bloqueando os canais o efeito da condição pré esquêmica é eliminado (AUCHAMPACH, 1992).



A proteína G estimula diversos eventos na célula, incluindo a ativação das proteínas quinases. Existem fortes evidências de que a PQC assume importante papel no fenômeno da pré condição, possivelmente por fosforilação de uma proteína como as dos  $CK_{ATP}$  no sarcolema ou mitocôndria. A inibição da PQC com polimixina ou estaurosporina (função de inibição de quinases, incluindo as fosforiladas, via interação com o site de ligação de ATP) previne a CPI (YTREHUS, 1994), em contrapartida a ativação da PQC com ésteres de forbol resulta em proteção dos cardiomiócitos, tanto em humanos (IKONOMIDIS, 1997) quanto em ratos (ARMSTRONG e GANOTE, 1994).

## 3 MATERIAIS E MÉTODOS

### 3.1 CARACTERIZAÇÃO DO ESTUDO

O referido estudo foi classificado como descritivo correlacional (THOMAS e NELSON, 2002), pois, além de caracterizar e descrever as variáveis fisiológicas avaliadas nos testes incrementais e de carga constante buscou a comparação e a relação dessas variáveis fisiológicas nas diferentes intensidades relativas ao  $VO_{2máx}$  e nos diferentes momentos (com e sem condição pré-isquêmica).

### 3.2 SUJEITOS DO ESTUDO

Foram selecionados para este estudo, 12 estudantes universitários. Como critérios de inclusão adotamos os seguintes: sexo masculino, fisicamente ativos (participação em atividade física por mais de 3 vezes/semana), idades entre 18 e 30 anos e residentes em Florianópolis, Santa Catarina. A amostragem utilizada foi não probabilística intencional. Todos os indivíduos foram qualificados como voluntários para o estudo após a assinatura de um termo de consentimento livre e esclarecido, aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade.

O “n” inicial de 12 sujeitos foi reduzido para 8 nos testes em carga severa por motivos de não comparecimento dos sujeitos e falhas técnicas durante as coletas.

### 3.3 INSTRUMENTOS

Todos os testes foram realizados em cicloergômetro de frenagem eletromagnética adotando uma cadência fixa de 70 rpm (ErgoCycle, 167, Ergo-Fit, Alemanha). Para medir as variáveis cardiorrespiratórias foi utilizado um analisador de gases (Quark PFTergo, Cosmed, Itália) coletando dados respiração a respiração. A massa corporal total foi medida em uma balança digital (Toledo®) e a estatura medida com um estadiômetro de parede (Sanny®) com precisão milimétrica.

Para o protocolo de oclusão de fluxo utilizou-se: uma maca hospitalar estática, um cronômetro e um esfigmomanômetro tamanho “PULSO OBESO” (Portaria INMETRO/DIMEL/Nº 166, de 26 de outubro de 2001) para a oclusão do fluxo da coxa, composto por um manguito de látex, envolto a uma braçadeira, com dois tubos vulcanizados conectados a uma pêra insufladora e um aneróide.

Para a determinação do lactato sanguíneo foram coletados do lóbulo da orelha, sem hiperemia, 25 µl de sangue em capilar heparinizado, sendo a seguir imediatamente transferido para microtubos de polietileno com tampa - tipo Eppendorff - de 1,5 ml, contendo 50 µl de solução de NaF 1% e armazenado em gelo. A análise do lactato foi realizada através de analisador eletroquímico modelo YSI 1500.

### 3.4 COLETA DE DADOS

#### 3.4.1 Procedimentos Preliminares:

Foram tomados os seguintes procedimentos anteriormente à aquisição dos dados:

- a) Submissão e aprovação do projeto junto ao Comitê de Ética em Pesquisa da UDESC, sob o protocolo nº 64/2010 (ANEXO I);
- b) Contato com os universitários por email e telefone solicitando a participação no estudo, explicando previamente seus objetivos e importâncias;
- c) Agendamento das avaliações para a realização das coletas no Laboratório de Pesquisas em Desempenho Humano (LAPEDH) no CEFID – UDESC.
- d) Organização do local de testes: disposição dos materiais acessórios para a análise de trocas respiratórias (calibração do equipamento e preparação dos demais materiais como máscaras, prendedores, cabos e etc.), o cardiófrequencímetro, a placa de percepção subjetiva de esforço (para os testes em carga severa), o lactímetro e seus insumos para a coleta sanguínea, bem como a climatização do ambiente.

#### 3.4.2 Procedimentos Gerais

Todos os indivíduos, voluntários para o estudo, compareceram ao laboratório, em cinco oportunidades diferentes, com um intervalo de no mínimo 24 horas. Os indivíduos foram instruídos à não ingestão de álcool e cafeína e não se exercitarem exaustivamente no dia anterior e nas horas precedentes à avaliação, além de comparecerem alimentados (com período pré-prandial adequado), hidratados e vestidos com roupa adequada para a prática de exercícios no dia do teste. Todos os testes foram executados em laboratório, no mesmo período do dia e com temperatura e umidade regulados.

Em um primeiro momento, e após assinarem voluntariamente um termo de consentimento com todos os esclarecimentos sobre os procedimentos dos testes, os indivíduos foram submetidos à avaliação antropométrica e em seguida a um teste máximo de carga incremental para a avaliação das variáveis máximas e submáximas. Em um segundo e terceiro dia de avaliações, os mesmos realizaram duas transições com protocolo de carga constante (PCC) em intensidade moderada, sendo a primeira realizada sem oclusão pré-teste e outra com oclusão pré-teste, configurando 30 minutos entre cada transição. Em um quarto e quinto momentos, os indivíduos realizaram procedimento semelhante ao supra-descrito, mas em intensidade severa e com um intervalo mínimo de 45 minutos anterior ao protocolo de oclusão intermitente de fluxo sanguíneo de 30 minutos.

### 3.4.3 Preparação do Sujeito

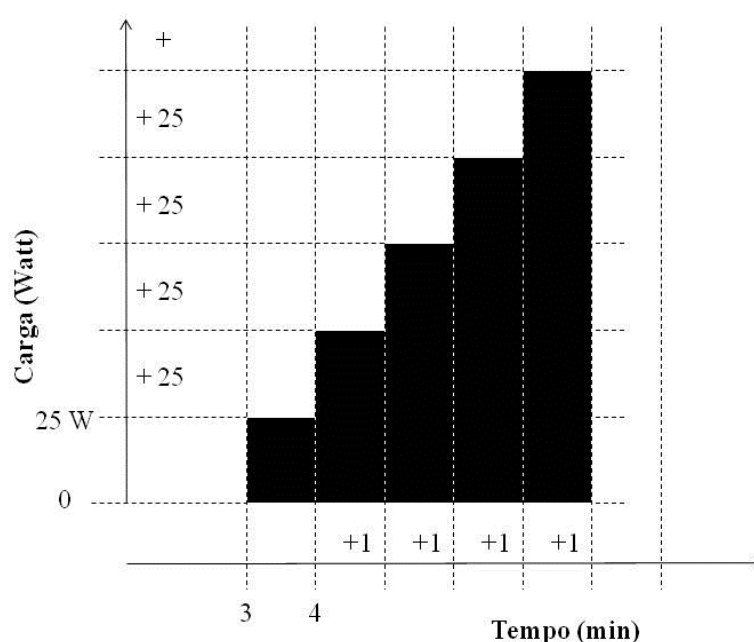
No dia da coleta de dados os sujeitos foram encaminhados para uma sala de antropometria, onde leram atentamente o termo de consentimento e os procedimentos pertinentes à pesquisa em questão e assinaram o termo apresentando-se como voluntário. Após isto, foram acessadas sua massa corporal e sua estatura.

Após isto, o sujeito era encaminhado para a sala de avaliações e instruído a realizar alongamento padronizado priorizando os grupos musculares de membros inferiores. Terminada esta fase, foram então posicionados no cicloergômetro para o ajuste da altura do selim e da presilha do pedal, além da distância do guidão para o posicionamento dos braços e empunhadura. Neste momento (após calibração da

aparelhagem) foi conectada ao sujeito a máscara de silicone presa à cabeça por equipamento específico, além do cardiofrequencímetro na altura do processo xifóide.

#### 3.4.4 Protocolo de determinação das variáveis máximas e submáximas.

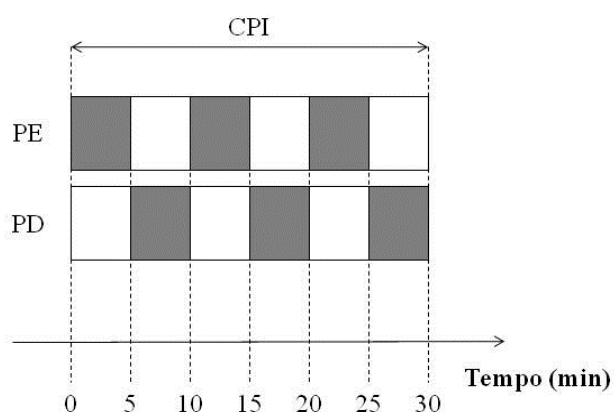
Os sujeitos realizaram um protocolo contínuo de cargas crescentes, em um cicloergômetro de frenagem eletromagnética. A carga inicial era de 25W com incrementos de 25 W cada minuto até à exaustão voluntária (**Erro! Fonte de referência não encontrada.**). O  $VO_2$  foi mensurado respiração a respiração durante todo o protocolo a partir do gás expirado, sendo os dados reduzidos às médias de 15 segundos. O  $VO_{2máx}$  foi o maior valor obtido durante o teste nestes intervalos de 15 segundos. Para considerarmos que, durante o teste, os indivíduos atingiram o  $VO_{2máx}$ , foram adotados os critérios propostos por Taylor et al. (1955). O Limiar Ventilatório (LV) foi definido como o  $VO_2$  no qual a produção de  $CO_2$  começa a aumentar desproporcionalmente em relação ao  $VO_2$ , combinado com um sistemático aumento no equivalente ventilatório do  $VO_2$  sem um concomitante aumento no equivalente ventilatório do  $VCO_2$  (WASSERMAN et al., 1967; REINHARD et al., 1979; BEAVER et al., 1986; CAIOZZO et al., 1982;)



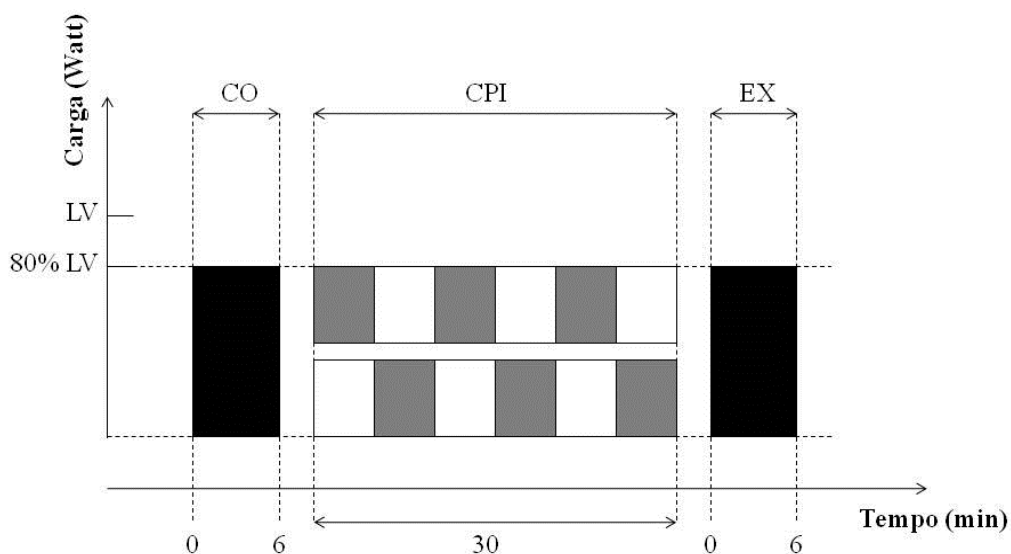
**Figura 2** Protocolo Progressivo. *Caixas Pretas* representam a carga e o tempo de permanência na mesma. Carga inicial de 25 W e incrementos de 25 W a cada minuto até a exaustão voluntária.

### 3.4.5 Protocolos de carga constante em intensidade moderada.

Os protocolos em intensidade moderada ocorreram em 2 dias (separados por um mínimo de 48hs) em um sistema de duas repetições (transições) de 6 min de exercício em carga moderada para cada dia, correspondentes a 80% do LV. Entre cada transição o indivíduo foi submetido ao protocolo de oclusão intermitente de fluxo sanguíneo (pré-condição isquêmica, Figura 3). Equipados com o analisador de gases, no primeiro instante, os indivíduos seguiram o protocolo supracitado, onde foi mensurada, além dos parâmetros ventilatórios a FC, a PSE e as [La] no início e ao final de cada repetição. Após esta primeira sessão, os indivíduos deitaram em uma maca hospitalar em decúbito dorsal, onde ocorreram os procedimentos de obstrução de fluxo sanguíneo das coxas (condição pré-isquêmica). A obstrução foi feita de maneira intermitente e alternada com três repetições de 5min de oclusão para cada coxa, totalizando 30 minutos. Para o protocolo de oclusão de fluxo, foi posicionado, na porção proximal da coxa, um manguito de coxa insuflado a 220 mmHg (KOOIJMAN et al., 2008). Logo após o procedimento de oclusão intermitente, o avaliado realizou a segunda transição em carga moderada com duração de 6 minutos (Figura 4).



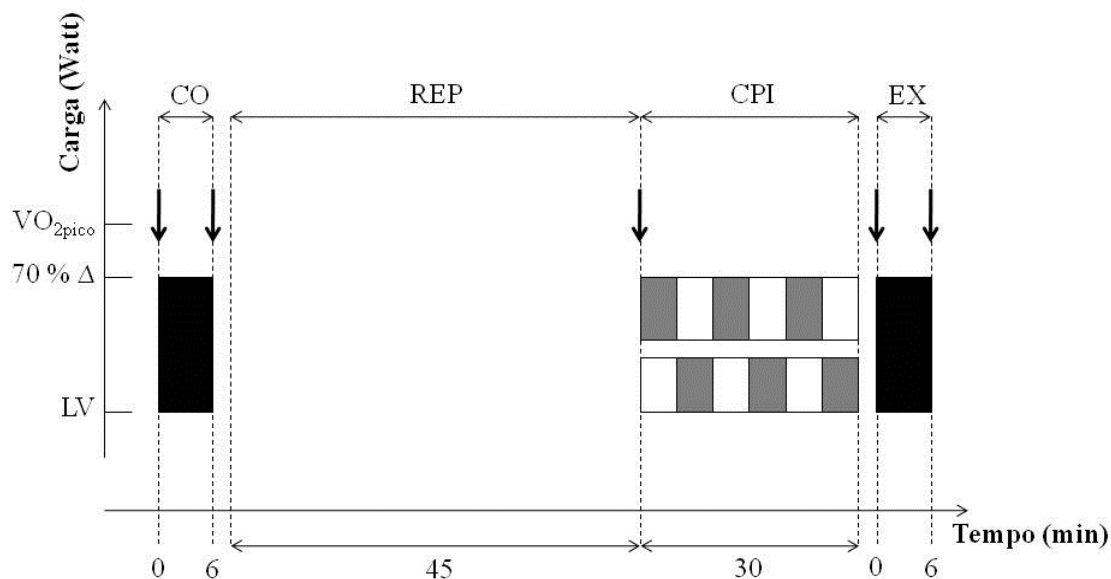
**Figura 3** Protocolo de oclusão intermitente. *CPI* condição pré isquêmica, *PD* perna direita, *PE* perna esquerda. *Caixas cinzas* representam 5 min de oclusão arterial na coxa, alternados por 5 min de perfusão (*Caixas brancas*).



**Figura 4** Protocolo de carga constante em intensidade moderada. *LV* limiar ventilatório, *CPI* condição pré isquêmica. *Caixas Pretas* representam a fase de exercício em carga moderada (carga em Watts correspondente a 80% do LV) com duração de 6 min, sendo *CO* controle (sem pré oclusão) e *EX* experimental (com pré oclusão).

#### 3.4.6 Protocolos de carga constante em intensidade severa.

Os protocolos de intensidade severa consistiram de sistema semelhante ao dos protocolos em carga moderada (Figura 5). Em dias separados por um mínimo de 48hs, os indivíduos realizaram duas repetições de exercício com seis minutos de esforço na intensidade correspondente a 70% do valor entre o  $VO_2$  no LV e o  $VO_{2máx}$  ( $70\% \Delta$ , isto é  $LV + 0.7 \times (VO_{2máx} - LV)$ ), semelhante à protocolo de Burnley et al. (2000). Cada repetição era intercalada por 45 minutos de repouso seguidos dos 30 minutos para o protocolo de condição pré-isquêmica, idêntico ao utilizado para os protocolos em carga moderada.



**Figura 5** Protocolo de carga constante em intensidade severa. Controle (CO), Experimental (EX), REP repouso passivo na maca,  $VO_{2pico}$  pico de consumo de oxigênio alcançado no teste progressivo,  $70\% \Delta$  significa o valor da carga (Watt) correspondente ao  $VO_2$  a  $70\%$  entre  $VO_{2pico}$  e o LV. *Caixas pretas* representam o exercício em carga constante e as *caixas brancas e cinzas* representam em conjunto o CPI (condição pré isquêmica).

### 3.5 ANÁLISE DOS DADOS

#### 3.5.1 Análise da Cinética do $VO_2$ e $VCO_2$

Para cada transição de exercício, os dados respiração por respiração do  $VO_2$  foram linearmente interpolados para obter valores com intervalos de 1 s. Os dados referentes às duas transições de cada visita serão alinhados, e posteriormente, calculadas as médias para os valores do  $VO_2$ , com o objetivo de diminuir o "ruído" e acentuar as características fundamentais das respostas fisiológicas. O  $VO_2$  de linha de base ( $VO_{2repouso}$ ) foi definido como o valor médio do último minuto obtido antes do início de cada teste. Os primeiros 20 s de exercício foram excluídos no modelo do ajuste (fase 1 - "cardiodinâmica"). O tempo de curso da resposta do  $VO_2$ , após os 20 s de exercício, foi descrito em termos de um (domínio moderado) ou dois componentes (domínio severo) exponenciais. Subsequentemente, cada resposta média foi descrita usando as seguintes equações (*Software Microcal Origin 6.0*):



$$VO_2(t) = VO_{2\text{repouso}} + A \times (1 - e^{-(t-\text{td})/\tau}) \quad \text{Eq. 1}$$

Onde:  $VO_2(t)$  é o consumo de oxigênio no tempo  $t$ ;  $VO_{2\text{repouso}}$  é o consumo de oxigênio imediatamente antes do início do teste de carga constante;  $A$  é a amplitude de aumento do consumo de oxigênio ( $VO_{2\text{final}} - VO_{2\text{repouso}}$ );  $TD$  (tempo de atraso) é a diferença de tempo entre o início do exercício e o valor de  $t$  quando  $y$  é igual a zero; e  $\tau$  (Tau) é a constante de tempo estimada (BARSTOW et al., 1996).

$$VO_2(t) = VO_{2\text{repouso}} + A_1 \times (1 - e^{-(t-\text{td}_1)/\tau_1}) + A_2 \times (1 - e^{-(t-\text{td}_2)/\tau_2}) \quad \text{Eq. 2}$$

O modelo bi-exponencial inclui amplitudes ( $A_1$  e  $A_2$ ), constantes de tempo ( $\tau_1$  e  $\tau_2$ ) e tempos de atraso ( $TD_1$  e  $TD_2$ ). Para determinar os parâmetros do melhor ajuste das curvas, foi utilizado um algoritmo não linear dos quadrados mínimos, adotando-se a minimização da soma dos erros quadrados como critério de convergência. A  $A_1$ , a  $\tau_1$  e o  $TD_1$  descrevem os parâmetros relacionados ao componente primário, enquanto a  $A_2$ , a  $\tau_2$  e o  $TD_2$  descrevem os parâmetros relacionados ao componente lento do  $VO_2$ .

Em todas as intensidades o MRT (tempo da resposta média) da resposta geral do  $VO_2$ , o que inclui a fase 1 (0-360 seg), será determinado pela mesma equação 1, restringindo-se o TD em zero.

### 3.5.2 Análise das taxas de oxidação de substratos energéticos

Foi utilizada calorimetria indireta para estimar a oxidação de carboidratos e gorduras durante o último minuto do exercício realizado na carga moderada, tanto para o momento controle quanto para o experimental. Para o cálculo da oxidação de carboidratos foi utilizada a seguinte equação (Jeukendrup e Wallis, 2005):

$$(4,21 \times VCO_2) - (2,962 \times VO_2) / 1000$$

Para o cálculo da oxidação de gorduras a equação utilizada foi a seguinte (Jeukendrup e Wallis, 2005):

$$(1,695 \times VO_2) - (1,701 \times VCO_2) / 1000$$

### 3.5.3 Análise estatística

Os dados foram expressos como média  $\pm$  DP. A normalidade dos dados foi verificada através do teste de Shapiro-Wilk. A análise dos efeitos da CPI na cinética do  $VO_2$  e do  $VCO_2$  foi realizada pelo *Teste t* para dados pareados. Em todos os testes foi adotado um nível de significância de  $p < 0,05$ .

## 4 RESULTADOS

As características gerais dos sujeitos estudados estão apresentadas descritivamente na Tabela 1. Todas as variáveis apresentaram distribuição normal.

**Tabela 1** Características gerais dos sujeitos e variáveis máximas e submáximas do teste incremental com média, desvio padrão, valores mínimo e máximo (n=12).

Variáveis	Média	DP	Mínimo	Máximo
Idade (anos)	23	2	20	26
Estatura (cm)	176,1	4,6	167,1	183
Massa (kg)	77,6	8,3	66,1	95,7
IMC	25	2,5	21,7	30,4
FC <sub>máx</sub> (bpm)	184,1	9,1	169	199
W <sub>pico</sub> (watt)	317,9	35,9	275	400
VO <sub>2máx</sub> (mL kg <sup>-1</sup> min <sup>-1</sup> )	46,7	5,7	39	61,7
LV (mL kg <sup>-1</sup> min <sup>-1</sup> )	24,4	4,6	18,4	36,8
LV (% VO <sub>2pico</sub> )	52,3	7,2	38,3	62,8

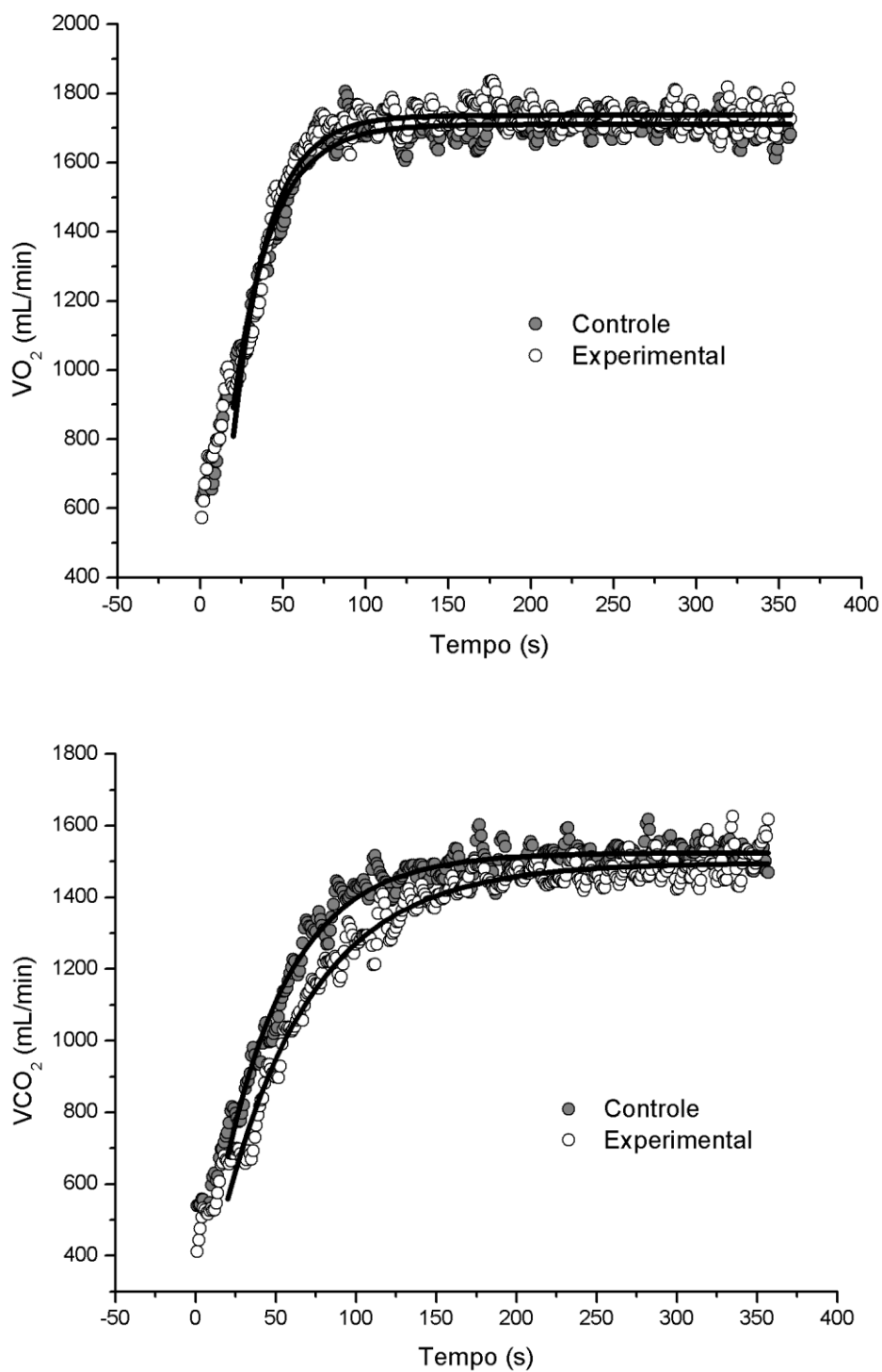
A tabela 2 mostra os parâmetros ventilatórios dos ajustes das cinéticas de VO<sub>2</sub> e VCO<sub>2</sub> para o domínio moderado com os dados expressos em média e desvio padrão dos 12 sujeitos submetidos a esta intensidade. Os parâmetros cinéticos do VO<sub>2</sub> não apresentaram diferença significativa entre a condição controle e experimental. Para o ajuste dos dados de VCO<sub>2</sub>, apenas a constante de tempo (t<sub>1</sub>) mostrou-se diferente entre as condições. Esta variável aumentou na condição experimental em relação ao controle, ou seja, uma cinética mais lenta após a intervenção com a CPI com a manutenção dos valores de VO<sub>2</sub> (Figura 7).

**Tabela 2** Média  $\pm$  DP dos parâmetros ventilatórios obtidos através do ajuste monoexponencial para os dados de  $VO_2$  e  $VCO_2$  no domínio moderado.

Parâmetros	$VO_2$		$VCO_2$	
	Controle	Experimental	Controle	Experimental
$y_0$ (mL min <sup>-1</sup> )	507,1 $\pm$ 69,8	531,3 $\pm$ 68,8	420,5 $\pm$ 88	375,8 $\pm$ 100,6
$A_1$ (mL min <sup>-1</sup> )	1205,4 $\pm$ 304,1	1207 $\pm$ 296,9	1106,2 $\pm$ 222,2	1123 $\pm$ 232,2
TD (s)	8,1 $\pm$ 7,8	14,1 $\pm$ 4,4	7,0 $\pm$ 7,7	10,8 $\pm$ 6,6
t (s)	25,4 $\pm$ 9,0	21,2 $\pm$ 6,6	43,4 $\pm$ 10,4	58,2 $\pm$ 18,5 *
$A_{final}$	1689,1 $\pm$ 291	1745,9 $\pm$ 291,7	1505 $\pm$ 255,7	1502,1 $\pm$ 251,8

n=12;  $y_0$ , Valor de linha de base,  $A_1$  Amplitude da assíntota,  $TD_1$  Tempo de atraso da resposta,  $t_1$  constante de tempo,  $A_{final}$ . média dos 30 segundos finais. \*  $p < 0,05$  comparado com o grupo controle

As variáveis provenientes do ajuste biexponencial para os dados de  $VO_2$  e  $VCO_2$  no domínio severo estão apresentados na Tabela 3. Nesta intensidade, a constante de tempo do componente primário ( $t_1$ ) apresentou valores significativamente menores após a CPI em relação a condição controle. Com um ajuste monoexponencial até os 120 segundos da transição excluindo a fase cardiodinâmica, para fins de redução de possíveis erros causados pelo ajuste com dois componentes, a variável supracitada apresenta o mesmo comportamento de redução da condição controle para a experimental, confirmando diferença significativa. Não foram encontradas diferenças significantes entre as condições em nenhum outro parâmetro relacionado a resposta do  $VO_2$ . Com relação à resposta do  $VCO_2$  também não foi encontrada diferença significativa entre as condições durante o exercício severo.



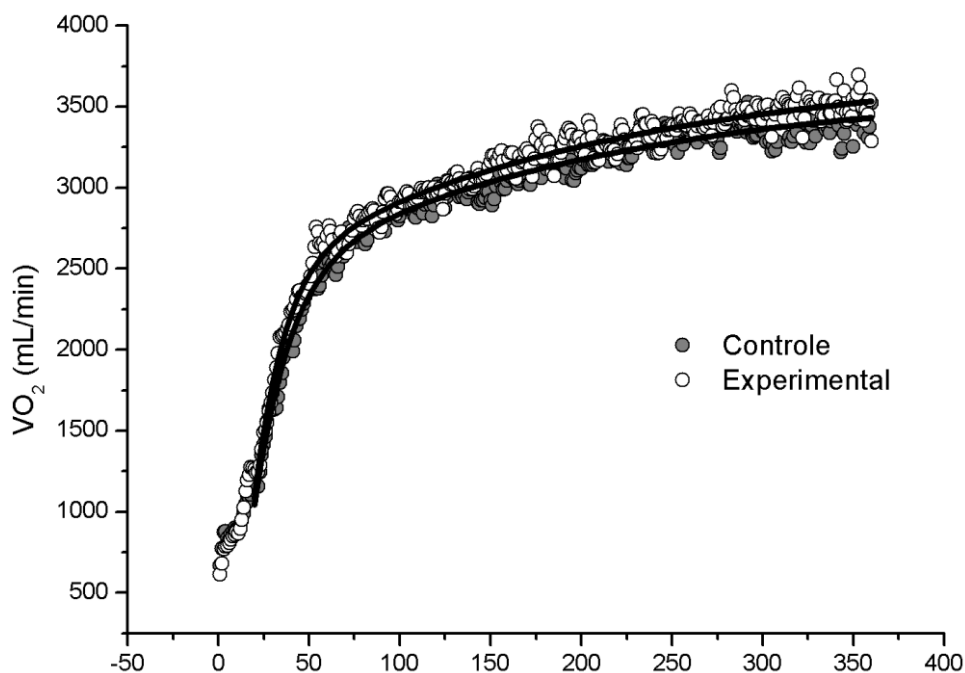
**Figura 6** Resposta do  $VO_2$  (painel superior) e  $VCO_2$  (painel inferior) em relação ao tempo com seus respectivos ajustes monoexponenciais durante exercício moderado. Representação da média de todos os sujeitos.

**Tabela 3** Média  $\pm$  DP dos parâmetros ventilatórios obtidos pelo ajuste biexponencial individual para os dados de  $VO_2$  e  $VCO_2$  no domínio severo

Parâmetros	$VO_2$		$VCO_2$	
	Controle	Experimental	Controle	Experimental
$y_0$ (mL min <sup>-1</sup> )	490,6 $\pm$ 45,1	533,1 $\pm$ 44,6	506,3 $\pm$ 86,3	505 $\pm$ 63
$A_1$ (mL min <sup>-1</sup> )	2461,7 $\pm$ 388,3	2463,2 $\pm$ 353,8	1913,2 $\pm$ 738,1	1907,6 $\pm$ 845,6
TD <sub>1</sub> (s)	8,8 $\pm$ 4,3	10,7 $\pm$ 3,9	47,6 $\pm$ 19,4	51,3 $\pm$ 35,2
$t_1$ (s)	19,2 $\pm$ 3,3	14,8 $\pm$ 3,6 *	57,9 $\pm$ 10,2	58,7 $\pm$ 11,8
$t_{1-120}$ (s)	27,9 $\pm$ 5,7	21,8 $\pm$ 5,3 *	—	—
$A_2$ (mL min <sup>-1</sup> )	502,5 $\pm$ 204,1	529,1 $\pm$ 133,5	1111,7 $\pm$ 509,3	1248,9 $\pm$ 612,3
TD <sub>2</sub> (s)	130,1 $\pm$ 31,7	117,2 $\pm$ 17,7	—	—
$t_2$ (s)	338,6 $\pm$ 256,4	174,3 $\pm$ 47,2	—	—
$A_{tot}$ (mL min <sup>-1</sup> )	3406,5 $\pm$ 474,4	3489,7 $\pm$ 435,6	3562,6 $\pm$ 506,2	3715,4 $\pm$ 546,1
$A_{tot}$ (% $VO_{2m\acute{a}x}$ )	93,29 $\pm$ 12,2	94,57 $\pm$ 11,8	—	—
LAC <sub>início</sub> (mmol/L)	0,73 $\pm$ 0,27	0,87 $\pm$ 0,31	—	—
LAC <sub>fim</sub> (mmol/L)	7,48 $\pm$ 2,58	7,01 $\pm$ 2,20 *	—	—

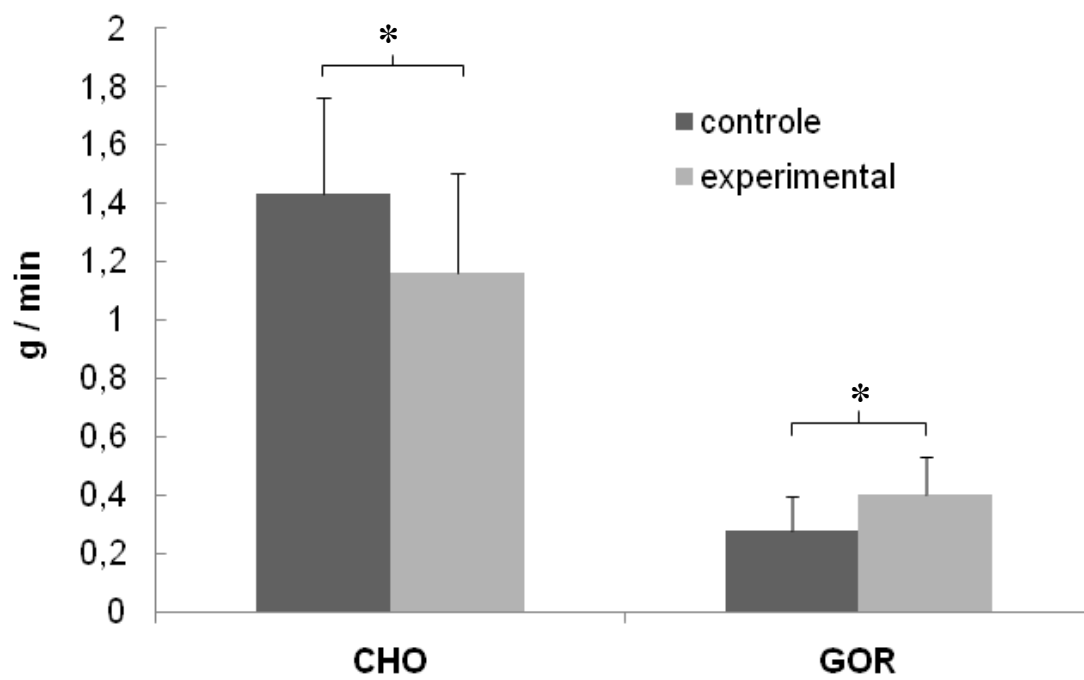
n=8;  $y_0$  Valor de linha de base,  $A_1$  e  $A_2$  Amplitude das assíntotas do primeiro e segundo componente, TD<sub>1</sub> e TD<sub>2</sub> Tempos de atraso da resposta,  $t_1$  e  $t_2$  constantes de tempo,  $t_{1-120}$  constante de tempo do ajuste mono exponencial entre 20 e 120 segundos,  $A_{tot}$  média dos 30 segundos finais em termos absolutos e em percentual do  $VO_{2m\acute{a}x}$ , LAC<sub>início</sub> média das concentrações ao início das transições de PCC, LAC<sub>fim</sub> média das concentrações das transições de 6 minutos de lactato ao final. \*  $p < 0,05$  comparado com o grupo controle.

As concentrações médias de lactato foram significativamente menores na condição controle quando comparado a experimental. A figura 8 mostra o comportamento cinético da variável  $VO_2$  com seus respectivos ajustes biexponenciais para as dados controle e experimentais.



**Figura 7** Cinética do VO<sub>2</sub> para o domínio severo. *Linhas grossas* representam os ajustes biexponenciais. Representação da média de todos os sujeitos.

A última representação gráfica (Figura 9) mostra as médias das taxas de oxidação dos substratos energéticos (carboidratos e gordura) para o último minuto dos exercícios moderado com e sem a CPI. A razão de troca respiratória (R) apresentou significativa ( $p < 0,001$ ) redução na condição controle ( $0,89 \pm 0,03$ ) comparado ao experimental ( $0,86 \pm 0,03$ ). Como apresentado na figura em questão, a taxa de oxidação de CHO sofre uma queda significativa ( $p < 0,001$ ) enquanto a taxa de oxidação de GOR aumenta ( $p < 0,001$ ), da condição controle para a experimental.



**Figura 8** Médias  $\pm$  DP das taxas de oxidação de carboidratos (CHO) e de gordura (GOR) nas diferentes condiçoes.



## 5 DISCUSSÃO

O escopo principal deste estudo foi avaliar o efeito da CPI sobre a cinética dos parâmetros ventilatórios ( $\text{VO}_2$  e  $\text{VCO}_2$ ) hipotetizando a aceleração da resposta do  $\text{VO}_2$  ao início do exercício para os diferentes domínios. Assim, neste capítulo, serão discutidos os tópicos relevantes que buscam elucidar, pelo menos em parte, as dúvidas geradas pelo problema de pesquisa. Serão discutidos primeiramente os efeitos da CPI sobre os resultados encontrados para o domínio moderado, em seguida para o domínio severo e por fim, sobre a oxidação de substratos, buscando comparar a literatura encontrada dentro das áreas de cinética do  $\text{VO}_2$  e  $\text{VCO}_2$  (nos respectivos domínios), de controle de fluxo sanguíneo no exercício e de respostas metabólicas à isquemia. Buscaremos então, limitar a discussão nos efeitos benéficos da CPI para o desempenho sem, contanto, elucidar os mecanismos biológicos mediadores desta intervenção.

### 5.1 DOMÍNIO MODERADO

No domínio moderado, os parâmetros de  $\text{VO}_2$  encontrados assemelham-se aos da literatura pesquisada, considerando a população, o tipo de exercício e o domínio pesquisado, com o tau variando em média entre 20 e 30 segundos (BRITTAIN et al., 2001; PRINGLE et al., 2006; SPENCER et al., 2010). Uma das hipóteses do estudo foi uma possível aceleração da cinética com a intervenção de CPI, no entanto, esta não alterou a cinética da resposta do  $\text{VO}_2$  em valores significativos. Pensando na hipótese da limitação periférica, o aumento de fluxo sanguíneo pela CPI, de fato, não seria representativo de uma significativa aceleração no Tau da fase II, uma vez que para este domínio, a limitação parece residir na inércia oxidativa (GRASSI 2001, 2005). Examinando a influência da hiperóxia sobre a cinética do  $\text{VO}_2$ , MacDONALD et al. (1997) não encontraram diferença significativa para o exercício realizado no domínio moderado, assim como outros estudos já haviam constatado (HUGHSON e KOWALCHUK, 1993; LINNARSON, 1974). Os primeiros autores, justificam tal fenômeno afirmando que para exercícios nesta carga, já há suficiente suporte de  $\text{O}_2$  para a musculatura ativa, assim sendo, o

transporte de  $O_2$  parece não limitar a resposta do  $VO_2$  nesta condição. Assim a ausência de efeito na cinética do  $VO_2$  no domínio moderado, sugere que os efeitos da CPI sobre a função e metabolismo muscular como sugerido por outros autores (LAWSON; DOWNEY, 1993; PANG et al., 1995), não parecem influenciar a resposta de ativação do metabolismo oxidativo ao início do exercício.

Sabemos ainda, que uma das limitações deste estudo foi o número baixo de transições realizadas para o domínio em questão. É usualmente recomendável que para um bom ajuste monoexponencial da cinética nesta intensidade, seja feita a média de diversas “transições” de exercício, buscando reduzir o desvio padrão dos “ruídos” sobrepostos (ROSSITER et al., 2000). Assim sendo, as 2 transições aqui realizadas podem, até certo ponto, terem mascarado a real resposta da cinética.

Há na literatura poucos estudos ainda, abrangendo as funções hemodinâmicas da intervenção pela CPI no músculo esquelético de humanos. Examinando diferentes intervenções isquêmicas sobre a condutância vascular da perna em 10 sujeitos, Polichnowski et al. (2005) encontraram um aumento significativo no fluxo sanguíneo, saindo de  $\sim 2,5$  para  $\sim 40 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}\cdot 100\text{mL}^{-1}$ , após oclusão na região do tornozelo à pressões suprassistólicas durante 10 min. Não sabemos de que modo este protocolo de CPI diferencia do modelo intermitente (5min de oclusão/5min de reperfusão) originalmente proposto por Murry et al. (1986) para a célula cardíaca. No entanto, para fins de proteção contra isquemia, este último parece ser o mais efetivo para o músculo esquelético em humanos (BUSHELL et al., 2002a).

A adenosina liberada pelo tecido submetido à CPI (PARRATT, 1994) é uma das principais substâncias responsáveis pela proteção à isquemia crônica, além de preservar os níveis de ATP (VER DONCK, 1994) e aumentar a atividade de algumas enzimas antioxidantes (MAGGIRWAR et al., 1994), atua no processo de aumento da oferta de oxigênio através da vasodilatação dos vasos de resistência (EISEN et al., 2004). Além da adenosina, outras substâncias vasodilatadoras parecem atuar como estimuladoras e/ou mediadoras da CPI, tais como: bradicinina, prostaglandinas, norepinefrina, angiotensina e endotelina, mas suas função ainda não foram bem definidas (EISEN et al., 2004). Estes mesmos autores sugerem ainda que, a CPI reduz a demanda energética e a queda de pH intracelular durante os episódios posteriores de isquemia crônica, refletindo em diminuição da taxa de glicólise anaeróbia, e conseqüentemente menor acúmulo de lactato, como já demonstrado

em corações pré condicionados (FINEGAN et al.; SCHAEFER et al., 1995). Apesar dos efeitos encontrados no metabolismo induzidos pela CPI, a ausência de modificação na resposta do metabolismo aeróbio ao início do exercício sugerem que os mecanismos fisiológicos alterados pela CPI não seriam necessariamente os mesmos que regulam o metabolismo energético durante o exercício. Além disso, as alterações metabólicas decorrentes da CPI são observadas em condições isquêmicas, o que difere significativamente das condições de exercício dinâmico realizado no presente estudo, uma vez que não são observadas diminuições tão acentuadas da  $PO_2$  celular nos primeiros segundos da transição (GRASSI, 2005; KINDIG et al, 2003).

Outro achado importante neste trabalho apresentou-se nos dados de cinética de  $VCO_2$ . Os dados aqui encontrados estão em consonância com os valores mostrados pela literatura, com a constante de tempo variando entre 50 e 60 segundos e sendo superiores aquelas observadas para a resposta do  $VO_2$  (HUGHSON e MORRISSEY, 1982; WHIPP e WARD, 1981; KOIKE et al., 1990). Esta variável mostrou-se, em média, maior com a intervenção da CPI ( $p=0,01$ ), ou seja, uma cinética significativamente mais lenta. Infelizmente, como não foram realizadas medidas para quantificar os efeitos da CPI sobre a musculatura, não seria prudente estabelecer relação direta de causa e efeito, no entanto podemos especular alguns acontecimentos que a oclusão possa ter causado na musculatura e conseqüentemente no comportamento do  $VCO_2$ .

Ao início da transição repouso-exercício de intensidade moderada, quando a PCr é hidrolisada, pela reação que remove  $H^+$  muscular, acontece aumento dos íons bicarbonato ( $HCO_3^-$ ) e cátions potássio ( $K^+$ ) no sangue e conseqüente déficit de  $H^+$  muscular. Esse déficit ocorre devido à menor ativação da via glicolítica anaeróbia para esta intensidade moderada i.e. 80% do LV (Spriet et al., 2000). Existe neste momento retenção de  $CO_2$  pela fibra muscular, que ao se ligar a água forma o ácido carbônico ( $H_2CO_3$ ), o qual é dissociado em  $HCO_3^-$  e  $H^+$ . A célula, que neste período de transição se torna alcalina traz para si o  $H^+$  e o  $HCO_3^-$  contrabalanceando a carga positiva ( $K^+$ ) no sangue e restaurando o pH interno da célula. Assim, a razão de troca respiratória diminui em função do  $O_2$  que está sendo consumido (WHIPP, 2007). Se as diferenças cinéticas entre  $VCO_2$  e  $VO_2$  são um resultado da maior capacitância tecidual para o  $CO_2$  que para o  $O_2$  então, a alteração desta capacitância levaria a alterações na cinética do  $VCO_2$ . De fato, é esperado que

durante os períodos de isquemia o músculo utilize seu metabolismo anaeróbio glicólico com conseqüente formação de íons  $H^+$ , os quais seriam também tamponados a partir do  $HCO_3^-$ . Portanto, durante a CPI a quantidade de  $HCO_3^-$  foi reduzido, o que estimulou uma maior retenção de  $CO_2$  ao início do exercício realizado após a CPI para restaurar os níveis de  $HCO_3^-$  e o equilíbrio interno conforme mencionado anteriormente, justificando uma cinética do  $VCO_2$  ainda mais lenta após a CPI. Além disso, estes resultados indicam que o protocolo de CPI utilizado no presente estudo parece realmente ter causado alterações fisiológicas associadas a episódios de isquemia, apesar da ausência de medidas diretas para esse tipo de quantificação.

No estudo desenvolvido por Groot et al. (2009), utilizando o mesmo protocolo de CPI deste estudo, foram testados 15 ciclistas treinados. Os sujeitos realizaram um teste incremental máximo com e outro sem a CPI pré-teste. Os autores encontraram incrementos significativos no  $VO_{2max}$  e na potência máxima dos atletas especulando possíveis benefícios da CPI sobre as valências hemodinâmicas, como aumento de fluxo sanguíneo (WESELCOUCH et al., 1993), maior disponibilidade de NO (KIMURA et al., 2007) e aumento de força e contratilidade (LAWSON e DOWNEY, 1993; PANG et al., 1995). Neste estudo, os pesquisadores mediram o  $VO_2$  submáximo durante os estágios iniciais de exercício, não encontrando diferenças na economia de movimento (menor  $VO_2$ ) da situação controle para a experimental, resultado também encontrado no presente estudo durante exercício moderado, no qual valores de  $VO_2$  se mostraram inalterados após a CPI. Estes resultados discordam em parte dos estudos que demonstraram uma economia de ATP em músculos esqueléticos de porcos (Pang et al., 1995) e a melhora de força e contratilidade em músculos esqueléticos de ratos (Lawson e Downey, 1993) após CPI, o que seria esperado com a melhor eficiência muscular seria a diminuição do  $VO_2$ . No entanto, como já mencionado anteriormente, estas modificações ocorreram em uma situação subsequente de isquemia, na qual a oferta de  $O_2$  é bastante prejudicada, diferente da condição encontrada durante o exercício moderado. Desta forma, os efeitos da CPI sobre o exercício dinâmico parecem ocorrer apenas em situações na qual a oferta de  $O_2$  começaria a exercer alguma limitação, i.e, exercícios de alta intensidade, como observado pela melhora do  $VO_{2max}$  e potência pico no estudo de Groot et al. (2009) e na cinética do  $VO_2$  durante o exercício severo no presente estudo.

## 5.2 DOMÍNIO SEVERO

No domínio em questão, os valores encontrados para os parâmetros ventilatórios de  $VO_2$  e  $VCO_2$  neste estudo, em especial o  $t_1$  e a amplitude do componente lento  $A_2$ , vão ao encontro daqueles encontrados na literatura, levando em consideração a amostra e o tipo de exercício realizado (SAITOH et al., 2009; DiMENNA et al., 2008; CARTER et al., 2004). Um interessante achado foi a significativa diminuição do  $t_1$  para a condição experimental indicando uma aceleração na resposta do metabolismo aeróbio. Como a intervenção por CPI parece ter aumentado o fluxo sanguíneo pré-exercício (oferta de  $O_2$ ), os benefícios da maior utilização do sistema aeróbio durante o início do exercício puderam também ser confirmados pela redução da  $[La]$  medido ao final do exercício. A determinação da cinética de  $VO_2$  através de condições experimentais na qual a oferta de oxigênio é manipulada, se torna um método chave na investigação destes fenômenos (JONES et al., 2003). Se a oferta de oxigênio para o músculo limita, pelo menos em parte, a adaptação do  $VO_2$  durante exercício de alta intensidade (i.e., acima da máxima fase estável de lactato), então aumentando esta oferta, a cinética seria acelerada (HUGHSON et al., 2001). Assim, estas intervenções representam importante papel no estudo da hipótese de limitação central.

Grassi et al. (2000) estudaram em músculo isolado de caninos a cinética do  $VO_2$  e os possíveis fatores limitantes com mensuração direta da cinética de oferta de  $O_2$  isolando os atrasos de ajuste através da manutenção do fluxo muscular elevado durante as contrações tetânicas a 100%  $VO_{2\text{pico}}$  muscular, além da administração de adenosina para evitar a vasoconstrição. Os autores encontraram aceleração na curva, levando a uma redução de 25% no déficit de  $O_2$  e evidenciando assim o papel da convecção de  $O_2$  enquanto fator limitante do  $VO_2$  muscular durante a transição de exercícios de alta intensidade. Desta forma, é provável que a vasodilatação causada pela intervenção por CPI (WESELCOUCH et al., 1993) e o conseqüente aumento de oferta de  $O_2$ , ao invés dos possíveis efeitos sobre o metabolismo e função muscular, aceleraram a resposta cinética do  $VO_2$  durante o exercício severo, mas não durante o exercício moderado, uma vez que este último é mais dependente da inércia

oxidativa (GRASSI, 2001), mecanismo no qual não parece ter sido influenciado pela CPI.

Intervenções com exercício prévio para a modificação de parâmetros de cinética (principalmente  $t_1$  e  $A_2$ ) são intensamente estudadas (JONES et al., 2003; GRASSI, 2001; DiMENNA et al., 2010; CHIN et al., 2010). No clássico estudo de Gerbino et al. (1996), foi investigada a influência do exercício prévio sobre a cinética do  $VO_2$  em diferentes condições experimentais. Os sujeitos foram submetidos a quatro combinações de 2 transições de 6 minutos em carga constante subseqüentes com intervalo de 6 min: (1) moderado + moderado, (2) moderado + pesado, (3) severo + moderado e (4) severo + severo. O exercício prévio acelerou a cinética apenas na 4ª condição, sustentando a hipótese da inércia oxidativa para as menores intensidades. Juntamente a estes achados, MacDonald et al. (1997) encontraram que a hiperóxia e o exercício prévio alteraram significativamente a cinética do  $VO_2$  para o exercício acima do VT. Neste, os autores encontraram redução significativa no MRT, no déficit de  $O_2$  e no componente lento, comparado ao exercício realizado em normóxia. Segundo os mesmos, estes achados evidenciam que a oferta de  $O_2$  contribui para o  $VO_2$  tecidual nestas intensidades ( $>VT$ ). Coletivamente, estes dois estudos suportam fortemente a idéia de que a cinética de  $VO_2$  poderia ser limitada pela oferta de  $O_2$  em condições normais durante o exercício em intensidade pesada.

Nos domínios acima do LV, as respostas de  $VO_2$  musculares e pulmonares ganham complexidade com a adição de um segundo componente para o ajuste, uma vez que é apresentado o componente lento (WHIPP, 2007). Com o intuito de amenizar as influências do segundo componente do ajuste sobre o primeiro, foi ajustado monoexponencialmente a resposta do  $VO_2$  até os 120 segundos iniciais, excluindo a fase cardiodinâmica. A aceleração da cinética após a intervenção de CPI permaneceu, fortalecendo as evidências já mostradas anteriormente. Como já proposto, o exercício prévio pesado influencia neste comportamento como resultado de uma vasodilatação na musculatura ativa, em vistas ao acúmulo eminente de metabólitos vasoativos (GERBINO et al., 1996; OZYENER et al., 2001). Além disso, a acidose metabólica pode aumentar a disponibilidade de oxigênio causando um desvio da curva de dissociação da oxihemoglobina para a direita (GERBINO et al., 1996).

Além das propriedades vasodilatadoras e metabólicas sobre a aceleração da cinética total do  $VO_2$  (GERBINO et al., 1996; MACDONALD et al., 1997; DeLOREY et al., 2007), o exercício prévio em intensidade pesada parece reduzir ou eliminar heterogeneidades de perfusão local (RICHARDSON et al., 2001). Recentemente, Saitoh et al. (2009) pesquisaram a influência do exercício prévio pesado sobre a heterogeneidade espacial da cinética de deoxigenação muscular. Além não encontrarem alteração na resposta total da cinética de  $VO_2$ , a heterogeneidade da cinética de deoxigenação muscular diminuiu significativamente sem, contudo, apresentar correlação com a diminuição do componente lento e do MRT. Segundo os pesquisadores, o exercício prévio pode ter promovido o suporte convectivo de  $O_2$  (melhor distribuição local) em múltiplos locais da musculatura ativa, aumentando a compatibilidade entre o  $VO_2$  e o  $QO_2$  musculares (BURNLEY et al., 2002; DeLOREY et al., 2007; FUKUBA et al., 2002).

A literatura suporta fortemente que a  $t_1$  do  $VO_2$  não difere significativamente com a intervenção do exercício prévio (BURNLEY et al., 2000, 2001, 2002; FUKUBA et al., 2002; JONES et al., 2003a; SCHEUERMANN et al., 2002) com poucas exceções (DeLOREY et al., 2007; PATERSON et al., 2005), mas é aparente a todos os estudos o decréscimo na  $A_2$  (componente lento) e no MRT durante a pedalada em carga pesada subsequente. Assim, se a heterogeneidade de oxigenação inter e intramuscular contribui para a lentidão na fase II da cinética do  $VO_2$  (i.e. limitação da oferta de  $O_2$ ), então essas variáveis deveriam apresentar relação direta entre si. As fibras do tipo II, que possuem uma menor densidade capilar devem apresentar maior sensibilidade para o aumento de perfusão. Uma grande disponibilidade de oxigênio facilitaria o  $VO_2$  e reduziria a produção de lactato (JONES et al., 2003). Se assumirmos que o componente lento representa a resposta do  $VO_2$  do grupo de fibras do tipo II, como já sugerido hipoteticamente (BARSTOW et al., 1996), as modificações de fluxo e oferta de oxigênio induzidos pela CPI não resultariam em relevante modificação deste componente, como encontrado no presente estudo. Desta forma, se o componente lento representa, de fato, menor eficiência e/ou cinética mais lenta nas fibras do tipo II recrutadas, a manutenção dos valores de  $A_2$  e MRT encontrados após a intervenção, procedimento que provavelmente alterou em uma maior proporção as propriedades de fluxo para as fibras do tipo I, as quais são mais dependentes do metabolismo aeróbio e conseqüentemente devam ter sido mais afetadas pela CPI.

Diferente do que encontramos no domínio moderado, o  $t_1$  do  $VCO_2$  não apresentou diferença significativa para o domínio severo. A aparente menor retenção de  $CO_2$ , a qual poderia ter causado um atraso na resposta do  $VCO_2$ , foi resultado de uma maior participação anaeróbia glicolítica em função da elevada intensidade do exercício (i.e.,  $\sim 94\% VO_{2m\acute{a}x}$ ). A maior demanda anaeróbia glicolítica que induz o aumento na produção de  $H^+$  parece ter um efeito antagônico à retenção de  $CO_2$  observada em exercícios de baixa intensidade, uma vez que em altas intensidades o  $HCO_3^-$  é utilizado para o tamponamento, e não produzido junto com os íons  $H^+$  para neutralizar a alcalose ao início do exercício moderado. Assim, no exercício severo a quantidade de  $CO_2$  retido naturalmente ao início da transição com a quebra do PCr, que provavelmente foi maior após o CPI, parece não apresentar valores representativos, uma vez que esta resposta foi rapidamente neutralizada pelo aumento da produção de  $CO_2$  proveniente do tamponamento dos íons  $H^+$ .

### 5.3 OXIDAÇÃO DE SUBSTRATOS

Como já especulado anteriormente, o procedimento experimental parece levar a alterações de fluxo sanguíneo pré-exercício, refletindo diretamente na cinética de consumo de  $VO_2$ . Além da necessidade de entendermos a influência das mudanças causadas pela CPI sobre os parâmetros ventilatórios, é necessário explorar também seus efeitos sobre o metabolismo energético, haja vista os valores encontrados no presente estudo.

Após a intervenção experimental por CPI constatamos, para os últimos 30s da transição em carga moderada, que os sujeitos oxidaram, em média, mais gordura e menos carboidrato. O R apresentou-se significativamente mais baixo após a intervenção ( $\sim 0,89$  para  $0,86$ ). Os dados de oxidação de substratos encontrados neste estudo são semelhantes aos encontrados na literatura para esta intensidade (CHENEVIÈRE et al., 2009; WELTAN et al., 1998; ROMIJN et al., 1993).

Existem processos importantes que determinam diretamente a oxidação de gordura: o transporte de ácidos graxos livres (AGL) através da membrana plasmática, o transporte de acil-CoA-graxo através da membrana mitocondrial e a capacidade de  $\beta$ -oxidação. No estudo de Nordby et al. (2006), não foi observada



relação entre a  $F_{m\acute{a}x}$  e a capacidade de  $\beta$ -oxidação do músculo, sugerindo que a oxidação pode ser mais dependente dos aspectos cardiovasculares (oferta de  $O_2$  e mobilização de FFA). Desta forma, a CPI pode ter contribuído com suas propriedades de melhoria de fluxo que pode ter aumentado a disponibilidade de AGL para musculatura (WESELCOUCH et al., 1993). No entanto, durante o exercício submáximo de longa duração (ver NORDBY et al., 2006) não há grande limitação cardiovascular, assim, a resposta hormonal influenciará significativamente a distribuição sistêmica de substrato, aumentando durante todo o exercício (COYLE et al., 1986).

Em exercício, sinais de dentro e de fora da célula muscular ativam passos metabólicos importantes que levam ao aumento da disponibilidade e do metabolismo de CHO e de GOR. Um aumento na disponibilidade de AGL aumenta as concentrações musculares de acetil-CoA e citrato, levando a uma redução na atividade da piruvato-desidrogenase (PDH) e da fosfofruto-quinase (PFK). O fluxo reduzido através da via glicolítica causa acúmulo da glicose-6-fosfato, a qual inibe a atividade da hexoquinase (HK) e por fim diminuindo o consumo de glicose, presumivelmente por aumento da concentração de glicose livre (citoplásmica), induz a diminuição no gradiente de glicose transarcolêmica (SPRIET e WATT, 2003).

A característica intermitente do protocolo de oclusão escolhido, resulta em degradação de moléculas de glicogênio e adenina nucleotídeos, e sua quebra produz lactato,  $H^+$ ,  $NH_3$  e Pi, com a reperfusão fazendo o caminho inverso (MURRY et al., 1986). Assim, durante os momentos de isquemia uma condição anaeróbia se configurava com a musculatura utilizando PCr e glicogênio. Durante a reperfusão, quando a oferta de  $O_2$  aumentava bruscamente, a musculatura predominantemente utilizava lactato e glicose para ressíntese de glicogênio e AGL para suprir a demanda energética (ATP). Assim, a  $\beta$ -oxidação pode ter sido ativada antecipadamente durante os períodos de reperfusão subseqüentes a isquemia, como acontece também nos períodos de recuperação logo após exercício intenso (JEUKENDRUP et al., 1998; SPRIET e WATT, 2003)

Enquanto o  $VO_2$  medido reflete, com confiança, o consumo de  $O_2$  pelo tecido, o  $VCO_2$  apenas é uma estimativa confiável do que é produzido na fibra muscular em intensidades baixas, com concentrações estáveis de  $HCO_3^-$ . No presente estudo, para este domínio, encontramos alteração na cinética do  $VCO_2$  com a intervenção o que poderia influenciar a estimativa da oxidação dos substratos energéticos por

calorimetria indireta. No entanto, como a CPI não alterou os valores de  $VCO_2$  obtidos no último minuto de exercício, é pouco provável que a cinética mais lenta do  $VCO_2$  possa ter influenciado na estimativa dos substratos energéticos (JEUKENDRUP et al., 2005).

## 6 CONCLUSÃO

Com base nos achados do presente estudo nós podemos concluir que:

A cinética do componente primário do  $\text{VO}_2$  ( $t_1$ ) foi acelerada após o CPI no exercício severo, sem efeitos sobre a cinética do  $\text{VO}_2$  durante o exercício moderado, sugerindo que o principal efeito do CPI parece residir sobre o aumento da oferta de  $\text{O}_2$  induzida pelas modificações no fluxo sanguíneo, corroborando com a hipótese da limitação periférica (inércia oxidativa) como principal determinante na cinética do  $\text{VO}_2$  ao início do exercício moderado.

A amplitude do componente lento não foi alterada pelo CPI indicando que outros aspectos diferentes daqueles obtidos pela nossa intervenção (e.g., aumento seletivo de fluxo sanguíneo nas fibras do tipo I) parecem ser os determinantes do componente lento.

No domínio moderado a cinética do  $\text{VCO}_2$  foi significativamente mais lenta após o CPI, indicando uma maior retenção de  $\text{CO}_2$  ao início do exercício como consequência da diminuição do  $\text{HCO}_3^-$  causados pela isquemia.

O CPI afetou significativamente a oxidação de substratos durante o exercício moderado, aumentando a oxidação de gorduras e diminuindo a oxidação de carboidratos, provavelmente em função da maior oferta de AGL (maior fluxo sanguíneo) e ativação da  $\beta$ -oxidação (ressíntese energética) durante os períodos de reperfusão.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABE, T.; KEARNS, C.F.; SATO, Y. Muscle size and strength are increased following walk training with restricted venous blood flow from the leg muscle, Kaatsu-walk training. *J Appl Physiol*, Bethesda, v.100, p.1460–1466, 2006.

ARMSTRONG, S.; GANOTE, C. E. Adenosine receptor specificity in preconditioning of isolated rabbit cardiomyocytes: evidence of A3 receptor involvement. *Cardiovasc Res*, v.28, p.1049–1056, 1994.

AUCHAMPACH, J. A.; GROVER, C. J.; GROSS, G. J. Blockade of ischemic preconditioning in dogs by the novel ATP dependent potassium channel antagonist sodium 5-hydroxydecanoate. *Cardiovasc Res*, v.26, p.1054–1062, 1992.

BABCOCK, M.A.; PATERSON, D.H.; CUNNINGHAM, D.A. Effects of aerobic endurance training on gas exchange kinetics of older men. *Med Sci Sports Exerc*, Madson, v. 26, p. 447-52, 1994.

BAILEY, S. J.; VANHATALO, A.; WILKERSON, D. P.; DIMENNA, F. J.; JONES, A. M. Optimizing the “priming” effect: influence of prior exercise intensity and recovery duration on O<sub>2</sub> uptake kinetics and severe-intensity exercise tolerance. *J Appl Physiol*. v.107, p.1743-1756, 2009.

BALON, T.W.; NADLER, J.L. Nitric oxide release is present from incubated skeletal muscle preparations. *J Appl Physiol*, Bethesda, v. 77, p. 2519-21, 1994.

BANGSBO, J.; GIBALA, M.J.; KRUSTRUP, P.; GONZALES-ALONSO, J.; SALTIN, B. Enhanced pyruvate dehydrogenase activity does not affect muscle O<sub>2</sub> uptake at onset of intense exercise in humans. *Am J Physiol Renal Physiol*, Bethesda, v.279, p.899-906, 2002.

BANGSBO, J.; KRUSTRUP, P.; GONZALEZ-ALONSO, J.; SALTIN, B. ATP production and efficiency of human skeletal muscle during intense exercise: effect of previous exercise. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, Bethesda, v. 280, p. 956-964, 2001.

BANGSBO, J.; MADSEN, K.; KIENS, B.; RICHTER, E.A. Effect of muscle acidity on muscle metabolism and fatigue during intense exercise in man. *J Physiol*, Londres, v.495, p.587-596, 1996.

BARSTOW, T.J.; JONES, A.M.; NGUYEN, P.; CASABURI, R. Influence of muscle fiber type and pedal frequency on oxygen uptake kinetics of heavy exercise. *J Appl Physiol*, Bethesda, v.81, p.1642-1650, 1996.

- BEAVER, W. L.; WASSERMAN, K.; Whipp, B. J. A new method for detecting anaerobic threshold by gas exchange. *Journal of Applied Physiology*, v.60, p.2020-2027, 1986.
- BELL, C.; PATERSON, D.H.; KOWALCHUK, J.M.; CUNNINGHAM, D.A. Oxygen uptake kinetics of older humans are slowed with age but are unaffected by hyperoxia. *Exp Physiol, Cambridge*, v.84, p.747-759, 1999.
- BERGER, N.J.; TOLFREY, K.; WILLIAMS, A.G.; JONES, A. M. Influence of continuous and interval training on oxygen uptake on-kinetics. *Med Sci Sports Exerc.* v.38, p.504-512, 2006.
- BHATNAGAR, A.; SRIVASTAVA, A.; SZABO, G. Oxidative stress alters specific membrane currents in isolated cardiac myocytes. *Circ Res*, v. 67, p.535–549, 1990.
- BROOKS, G.A.; FAHEY, T.D.; BALDWIN, K.M. *Exercise physiology: human bioenergetics and its applications*. 4th ed, Nova York: Mac Graw Hill, 2004. 876p.
- BROOKS, G.A.; HILTTELMAN, J.A.; FAULKNER, J.A.; BEYER, R.E. Temperature, skeletal muscle mitochondrial functions, and oxygen debt. *Am J Physiol, Bethesda*, v. 220, p. 1053-59, 1971.
- BUCHHEIT, M.; LAURSEN, P. B.; AHMAIDI, S. Effect of prior exercise on pulmonary O<sub>2</sub> uptake and estimated muscle capillary blood flow kinetics during moderate-intensity field running in men. *J Appl Physiol.* v.107, p.460-470, 2009.
- BURGOMASTER, K. A.; MOORE, D. R.; SCHOFIELD, L. M.; PHILLIPS, S. M.; SALE, D. G.; GIBALA, M. J. Resistance training with vascular occlusion: metabolic adaptations in human muscle. *Med Sci Sports Exerc*, v.35, p.1203-1208, 2003.
- BURNLEY, M.; DOUST, J. H.; BALL, D.; JONES, A. M. Effects of prior heavy exercise on VO<sub>2</sub> kinetics during heavy exercise are related to changes in muscle activity. *J Appl Physiol.* v.93, p.167–174, 2002.
- BURNLEY, M.; DOUST, J.H.; CARTER, H.; JONES, A.M. Effects of prior exercise and recovery duration on oxygen uptake kinetics during heavy exercise in humans. *Exp Physiol, Cambridge*, v. 86, p. 417-25, 2001.
- BURNLEY, M.; DOUST, J.H.; JONES, A.M. Effects of prior warm-up regime on severe-intensity cycling performance. *Med Sci Sports Exerc, Madison*, v. 37, p. 838-45, 2005.
- BURNLEY, M.; JONES, A.M.; CARTER, H.; DOUST, J.H. Effects of prior heavy exercise on phase II pulmonary oxygen uptake kinetics and the slow component during heavy exercise. *J Appl Physiol, Bethesda*, v. 89, p. 1387-96, 2000.
- BUSHELL, A. J.; KLENERMAN L.; TAYLOR, S.; DAVIES H.; GRIERSON, I., HELLIWELL, T. R.; et al. Ischaemic preconditioning of skeletal muscle: 1. Protection against the structural changes induced by ischaemia/reperfusion injury. *J Bone Joint Surg (Br)*, v.84, p.1184-1188, 2002a.

BUSHELL, A. J.; KLENERMAN, L.; DAVIES, H.; GRIERSON, I.; MCARDLE, A.; JACKSON, M. J. Ischaemic preconditioning of skeletal muscle: 2. Investigation of the potential mechanisms involved. *J Bone Joint Surg (Br)*, v.84, p.1189-1193, 2002b.

CAIOZZO, V. J.; DAVIS, J. A.; ELLIS, J. F.; AZUS, J. L.; VANDAGRIFF, R.; PRIETTO, C. A.; MCMASTER, W. C. A comparison of gas exchange indices used to detect the anaerobic threshold. *Journal of Applied Physiology: Respiratory Environment Exercise Physiology*, Bethesda, v.53, n.5, p.1184-1189, 1982.

CALBET, J. A. L.; LUNDBY, C.; SANDER, M.; ROBACH, P.; SALTIN, B.; BOUSHEL, R. Effects of ATP-induced leg vasodilation on  $\text{VO}_2$  peak and leg  $\text{O}_2$  extraction during maximal exercise in humans. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, v.291, p.447-453, 2006.

CAPUTO, F., DENADAI, B. S. Exercise mode affects the time to achieve  $\text{VO}_2\text{max}$  without influencing maximal exercise time at the intensity associated with  $\text{VO}_2\text{max}$  in triathletes. *Int J Sports Med*, Stuttgart, v.27, p.798-803, 2006.

CAPUTO, F., DENADAI, B. S. The highest intensity and the shortest duration permitting attainment of maximal oxygen uptake during cycling: effects of different methods and aerobic fitness level. *Eur J Appl Physiol*, Berlin, v.103, p.47-57, 2008.

CAPUTO, F., MELLO, M.T., DENADAI, B.S. Oxygen uptake kinetics and time to exhaustion in cycling and running: a comparison between trained and untrained subjects. *Arch Physiol Biochem*, v.111, p.461-466, 2003.

CAPUTO, F.; DENADAI, B.S. Effects of aerobic endurance training status and specificity on oxygen uptake kinetics during maximal exercise. *Eur J Appl Physiol*, Berlin, v. 93, p. 87-95, 2004.

CARTEE, G. D.; DOUEN, D. A. G.; RAMLAL, T.; KLIP, A.; HOLLOZY, J. O. Stimulation of glucose transport in skeletal muscle by hypoxia. *J Appl Physiol*, v.70, p.1593-1600, 1991.

CARTER, H.; GRICE, Y.; DEKERLE, J.; BRICKLEY, G.; HAMMOND, A. J. Effect of prior exercise above and below critical power on exercise to exhaustion. *Med Sci Sports Exerc*, Madison, v. 37, p. 775-81, 2005.

CARTER, H.; PRINGLE, J. M. S.; JONES, A. M.; DOUST, J. H. Oxygen uptake kinetics during treadmill running across exercise intensity domains. *Eur J Appl Physiol*, v.86, p.347-354, 2002.

CARTER, H.; PRINGLE, J. S. M.; BOOBIS, L.; JONES, A. M.; DOUST, J. H. Muscle Glycogen Depletion Alters Oxygen Uptake Kinetics during Heavy Exercise. *Med. Sci. Sports Exerc.* v.36, p.965-972, 2004.

CHENEVIÈRE, X.; BORRANI, F.; EBENEGGER, V.; GOJANOVIC, B.; MALATESTA, D. Effect of 1-hour single bout of moderate-intensity exercise on fat

oxidation kinetics. *Met Clin Exp.* v.58, p.1778-1786, 2009.

CHIN, L. M. K.; HEIGENHAUSER, G. J. F.; PATERSON, D. H.; KOWALCHUK, J. M. Effect of hyperventilation and prior heavy exercise on O<sub>2</sub> uptake and muscle deoxygenation kinetics during transitions to moderate exercise. *Eur J Appl Physiol.* v.108, p.913-925, 2010.

CHIU, D.; WANG, H. H.; BLUMENTHAL, M. R. Creatine phosphokinase release as a measure of tourniquet effect on skeletal muscle. *Arch Surg,* v.111, p.71-74, 1976.

COOKE, R.; FRANKS, K.; LUCIANI, G.B.; PATE, E. The inhibition of rabbit skeletal muscle contraction by hydrogen ions and phosphate. *J Physiol, Londres,* v. 395, p. 77-97, 1988.

COYLE, E. F.; COGGAN, A.; HEMMERT, M.; IVY, J. Muscle glycogen utilization during prolonged strenuous exercise when fed carbohydrate. *J Appl Physiol.* v.61, p.165–172, 1986.

COYLE, E.F. Improved muscular efficiency displayed as tour de france champion matures. *J Appl Physiol, Bethesda,* v. 98, p. 2191-6, 2005.

COYLE, E.F. Understanding efficiency of human muscular movement exemplifies integrative and translational physiology. *J Physiol, Londres,* v.15, p. 501, 2006.

CRIBIER, A.; KORSATZ, L.; KONING, R.; et al. Improved myocardial ischemic response and enhanced collateral circulation with long repetitive coronary occlusion during angioplasty: a prospective study. *J Am Coll Cardiol,* v.20, p.578–586, 1992.

CURTIN, N.A.; WOLEDGE, R.C. Energy changes and muscular contraction. *Physiol Rev, Bethesda,* v. 58, p. 690-761, 1978.

DAS, D. K.; MAULIK, N.; SATO, M.; RAY, P. S. Reactive oxygen species function as second messenger during ischemic preconditioning of heart. *Mol Cell Biochem,* v.196, p.59–67, 1999.

DAUSSIN, F. N.; ZOLL, J.; DUFOUR, S. P.; PONSOT, E.; LONSDORFER-WOLF, E.; DOUTRELEAU, S.; et al. Effect of interval versus continuous training on cardiorespiratory and mitochondrial functions: relationship to aerobic performance improvements in sedentary subjects. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* v.295, p.264-272, 2008.

DE GROOT, P.C.; THIJSEN, D.H.; SANCHEZ, M.; ELLENKAMP, R.; HOPMAN, M.T. Ischemic preconditioning improves maximal performance in humans. *Eur J Appl Physiol, Berlin,* v.108, p.141-146, 2009.

DELOREY, D. S.; KOWALCHUK, J. M.; HEENAN, A. P.; DUMANOIR, G. R.; PATERSON, D. H. Prior exercise speeds pulmonary O<sub>2</sub> uptake kinetics by increases in both local muscle O<sub>2</sub> availability and O<sub>2</sub> utilization. *J Appl Physiol.* v.103, p.771-778, 2007.

DEMARLE, A. P.; SLAWINSKI, J. J.; LAFFITE, L. P.; BOCQUET, V.G.; KORALSZTEIN, J. P.; BILLAT, V. L. Decrease of O<sub>2</sub> deficit is a potential factor in increased time to exhaustion after specific endurance training. *J Appl Physiol*. v.90, p.947-953, 2001.

DENADAI, B.S.; CAPUTO, F. Efeitos do treinamento sobre a cinética do consumo de oxigênio durante o exercício realizado nos diferentes domínios de intensidade de esforço. *Motriz*, Rio Claro, v. 9, p. S1-S7, 2003.

DEUTSCH, E.; BERGER, M.; KUSSMAUL, W. G. et al. Adaptation to ischemia during percutaneous transluminal coronary angioplasty. Clinical, hemodynamic and metabolic features. *Circulation*, v.82, p.2044–2051, 1990.

DICK, D. J.; PETERS, S. J.; WENDLING, P. S.; CHESLEY, A., HULTMAN, E.; SPRIET L. L. Regulation of muscle glycogen phosphorylase activity during intense aerobic cycling with elevated FFA. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. v.270, p.116-125, 1996.

DICK, D. J.; PUTMAN, C. T.; HEIGENHAUSER, G. J. F.; HULTMAN, E.; SPRIET, L. L. Regulation of fat-carbohydrate interaction in skeletal muscle during intense aerobic cycling. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. v.265, p.852-859, 1993.

DIMENNA, F. J.; WILKERSON, D. P.; BURNLEY, M.; BAILEY, S. J.; JONES, A. M. Priming exercise speeds pulmonary O<sub>2</sub> uptake kinetics during supine “work-to-work” high-intensity cycle exercise. *J Appl Physiol* 108: 283–292, 2010.

EISEN, A.; FISMAN, E. Z.; RUBENFIRE, M, et al. Ischemic preconditioning: nearly two decades of research. A comprehensive review. *Atherosclerosis*, v.172, p.201-220, 2004.

FALES, J. T.; HEISEY, S. R.; ZIERLER, K. L. Blood flow from and oxygen uptake by muscle, during and after partial venous occlusion. *Am J Physiol*, v.203, p.470-474, 1962.

FIGUEIRA, T. R.; CAPUTO, F.; MACHADO, C.E.P.; DENADAI, B.S. Aerobic fitness level typical of elite athletes is not associated with even faster vo<sub>2</sub> kinetics during cycling exercise. *Journal of Sports Science and Medicine*, Ankara, v. 7, p. 132-138, 2008.

FINEGAN, B. A; LOPASCHUK, G. D.; GANDHI, M.; CLANACHAN, A. S. Ischemic preconditioning inhibits glycolysis and proton production in isolated working rat hearts. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. v.269, p.1767–1775, 1995.

FUKUBA, Y.; ENDO, M. Y.; OHE, Y.; HIROTOSHI, Y.; KITANO, A.; SHIRAGIKU, C.; et al. Central circulatory and peripheral O<sub>2</sub> extraction changes as interactive facilitators of pulmonary O<sub>2</sub> uptake during a repeated high-intensity exercise protocol in humans. *Eur J Appl Physiol*. v.99, p.361-369, 2007.

FUKUBA, Y.; HAYASHI, N.; KOGA, S.; YOSHIDA, T. VO<sub>2</sub> kinetics in heavy exercise



is not altered by prior heavy exercise with a different muscle group. *J Appl Physiol*, Bethesda, v. 92, p. 2467-74, 2002.

FUKUOKA, Y.; GRASSI, B.; CONTI, M.; GUIDUCCI, D.; SUTTI, M.; MARCONI, C.; CERRETELLI, P. Early effects of exercise training on  $VO_2$  on- and off-kinetics in 50-year-old subjects. *Pflugers Arch-Eur J Physiol*, Berlin, v. 443, p. 690-7, 2002.

GAESSER, G.A.; POOLE, D.C. The slow component of oxygen uptake kinetics in humans. *Exerc Sport Sci Rev*, v. 24, p. 35-70, 1996.

GASTIN, P.B. Energy system interaction and relative contribution during maximal exercise. *Sports Med*, Auckland, v. 31, p. 725-41, 2001.

GERBINO, A.; WARD, S.A.; WHIPP, B.J. Effects of prior exercise on pulmonary gas exchange kinetics during high-intensity exercise in humans. *J Appl Physiol*, Bethesda, v. 80, p. 99-107, 1996.

GOLLNICK, P.D.; BERTOCCI, L.A.; KELSO, T.B.; WITT, E.H.; HODGSON, D.R. The effect of high-intensity exercise on the respiratory capacity of skeletal muscle. *Pflugers Arch-Eur J Physiol*, Berlin, v. 415, p. 407-13, 1990.

GRASSI, B. Delayed metabolic activation of oxidative phosphorylation in skeletal muscle at exercise onset. *Med Sci Sports Exerc*, v.37, n°9, p.1567-1573, 2005.

GRASSI, B. Oxygen uptake kinetics: old and recent lessons from experiments on isolated muscle in situ. *Eur J Appl Physiol*, Berlin, v. 90, p. 242-49, 2003.

GRASSI, B. Regulation of oxygen consumption at exercise onset: is it really controversial? *Exerc Sport Sci Rev*, v.29, p.134-138, 2001.

GRASSI, B.; GLADDEN, L. B.; STARY, C. M.; WAGNER, P. D.; HOGAN, M. C. Peripheral  $O_2$  diffusion does not affect  $VO_2$  on-kinetics in isolated in situ canine muscle. *J. Appl. Physiol.* 85:1404–1412, 1998.

GRASSI, B.; HOGAN, M. C.; KELLEY, K. M.; et al. Role of convective  $O_2$  delivery in determining  $VO_2$  on-kinetics in canine muscle contracting at peak  $VO_2$ . *J. Appl. Physiol*, v.89, p.1293–1301, 2000.

GRASSI, B.; POOLE, D.C.; RICHARDSON, R.S.; KNIGHT, D.R.; ERICKSON, B.K.; WAGNER, P.D. Muscle  $O_2$  uptake kinetics in humans: implications for metabolic control. *J Appl Physiol*, Bethesda, v. 80, p. 988-98, 1996.

GREENHAFF, P.L.; TIMMONS, J. A. Interaction between aerobic and anaerobic metabolism during intense muscle contraction. *Exerc Sport Sci Rev*, Baltimore, v. 26, p. 1-30, 1998.

GURD, B. J; PETERS, S. J.; HEIGENHAUSER, G. J. F; LEBLANC, P. J.; DOHERTY, T. J.; PATERSON, D. H.; et al. Prior heavy exercise elevates pyruvate dehydrogenase activity and muscle oxygenation and speeds  $O_2$  uptake kinetics during moderate exercise in older adults. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*.

v.297, p.877-884, 2009.

GURD, B.J.; SCHEUERMANN, B.W.; PATERSON, D.H.; KOWALCHUK, J.M. Prior heavy-intensity exercise speeds VO<sub>2</sub> kinetics during moderate-exercise in young adults. *J Appl Physiol*, Bethesda, v. 98, p. 1371-8, 2005.

HAN, Y.; GEIGER, P.C.; CODY, M.J.; MACKEN, R.L.; SIECK, G.C. ATP consumption rate per cross bridge depends on myosin heavy chain isoform. *J Appl Physiol*, Bethesda, v. 94, p. 2188-96, 2003.

HOWLETT, R. A.; HOGAN, M. C. Dichloroacetate accelerates the fall in intracellular PO<sub>2</sub> at onset of contractions in xenopus single muscle fibers. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, v.284, p.481-45, 2003.

HUGHSON, R. L., AND J. M. KOWALCHUK. Kinetics of oxygen uptake for submaximal exercise in hyperoxia, normoxia, and hypoxia. *Can. J. Appl. Physiol.* 20: 199–211, 1995.

HUGHSON, R. L.; MORRISSEY, M. Delayed kinetics of respiratory gas exchange in the transition from prior exercise. *J Appl Physiol.* v.52, p.921–929, 1982.

HUGHSON, R.L.; COCHRANE, J.E.; BUTLER, G.C. Faster O<sub>2</sub> uptake kinetics at onset of supine exercise with than without lower body negative pressure. *J Appl Physiol*, Bethesda, v. 75, p. 1962-7, 1993.

HUGHSON, R.L.; TSCHAKOVSKY, M.E.; HOUSTON, M.E. Regulation of oxygen consumption at the onset of exercise. *Exerc Sports Sci Rev*, Baltimore, v. 29, p. 129-33, 2001.

IKONOMIDIS, J. S.; SHIRAI, T.; WEISEL, R. D.; DERYLO, B.; RAO, V.; WHITESIDE, C. I.; et al.. Preconditioning cultured human pediatric myocytes requires adenosine and protein kinase C. *Am J Physiol*, v.272, p.1220–1230, 1997.

IKONOMIDIS, J. S.; TUMIATI, L. C.; WEISEL, R. D.; et al. Preconditioning human ventricular cardiomyocytes with brief periods of simulated ischemia. *Cardiovasc Res*, v.28, p.1285–1291, 1994.

JEUKENDRUP, A. E.; SARIS, W. H. M.; WAGENMAKERS, A. J. M. Fat metabolism during exercise: a review – part II: Regulation of metabolism and de effects of training. *Int J Sports Med.* v.19, p.293-302, 1998.

JEUKENDRUP, A. E. e WALLIS, G. A. Measurement of substrate oxidation during exercise by means of gas exchange measurements. *Int J Sports Med.* v.26, p.28-37, 2005.

JONES, A.M.; KOPPO, K.; BURNLEY, M. Effects of prior exercise on metabolic and gas exchange responses to exercise. *Sports Med*, Auckland, v. 33, p. 949-71, 2003a.

JONES, A.M.; POOLE, D.C. Oxygen uptake dynamics: from muscle to mouth – an

introduction to the symposium. *Med Sci Sports Exerc*, Madison, v. 37, p. 1542-50, 2005.

JONES, A.M.; WILKERSON, D.P.; BURNLEY, M.; KOPPO, K. Prior heavy exercise enhances performance during subsequent perimaximal exercise. *Med Sci Sports Exerc*, Madison, v. 35, p. 2085-92, 2003c.

JONES, A.M.; WILKERSON, D.P.; KOPPO, K.; WILMSHURST, S.; CAMPBELL, I.T. Inhibition of nitric oxide synthase by L-NAME speeds phase II pulmonary VO<sub>2</sub> kinetics in the transition to moderate-intensity exercise in man. *J Physiol*, Londres, v. 552, p. 265-72, 2003b.

JONES, A.M.; WILKERSON, D.P.; WILMSHURST, S.; CAMPBELL, I.T. Influence of L-NAME on pulmonary O<sub>2</sub> uptake kinetics during heavy-intensity cycle exercise. *J Appl Physiol*, Bethesda, v. 96, p. 1033-38, 2003d.

KINDIG, C.A.; HOWLETT, R.A.; STARY, C.M.; WALSH, B.; HOGAN, M.C. Effects of acute creatine kinase inhibition on metabolism and tension development in isolated single myocytes. *J Appl Physiol*, Bethesda, v. 98, p. 541-549, 2005.

KINDIG, C. A.; KELLEY, K. M.; HOWLETT, R. A.; STARY, C. M.; HOGAN, M. C. Assessment of O<sub>2</sub> uptake dynamics in isolated single skeletal myocytes. *J Appl Physiol*. v.94, p.353-357, 2003.

KOIKE, A.; WASSERMAN, K.; MCKENZIE, D. K.; ZANCONATO, S.; RAVELL-WEILER, D. Evidence that diffusion limitation determines oxygen uptake kinetics during exercise in humans. *J Clin Invest*. v.86, p.1698-1706, 1990.

KOOIJMAN, M.; THIJSSSEN, D. H.; DE GROOT P. C.; BLEEKER, M. W.; VAN KUPPEVELT, H. J.; GREEN, D. J. et al. Flow-mediated dilatation in the superficial femoral artery is nitric oxide mediated in humans. *J Physiol*, v.586, p.1137-1145, 2008.

KOPPO, K.; JONES, A.M.; BOUCKAERT, J. Effect of prior heavy arm and leg exercise on VO<sub>2</sub> kinetics during heavy exercise. *Eur J Appl Physiol*, Berlin, v. 88, p. 593-600, 2003.

KOPPO, K.; WILKERSON, D.P.; BOUCHAERT, J.; WILMSHURST, S.; CAMPBELL, I.T.; JONES, A.M. Influence of DCA on pulmonary VO<sub>2</sub> kinetics during moderate-intensity cycle exercise. *Med Sci Sports Exerc*, Madison, v. 36, p. 1159-64, 2004.

KRUSTRUP, P.; FERGUSON, R.A.; KJAER, M.; BANGSBO, J. ATP and heat production in human skeletal muscle during dynamic exercise: higher efficiency of anaerobic than aerobic ATP resynthesis. *J Physiol*, Londres, v. 549, p. 255-69, 2003.

KRUSTRUP, P.; SODERLUND, K.; MOHR, M.; BANGSBO, J. Slow-twitch fiber glycogen depletion elevates moderate-exercise fast-twitch fiber activity and O<sub>2</sub> uptake. *Med Sci Sports Exerc*, Madison, v. 36, p. 973-82, 2004b.

KRUSTUP, P.; SODERLUND, K.; MOHR, M.; BANGSBO, J. The slow component of oxygen uptake during intense sub-maximal exercise in man is associated with additional fibre recruitment. *Pflugers Arch – Eur J Physiol*, Berlin, v. 447, p. 855-66, 2004a.

KRUSTUP, P.; SECHER, N. H.; RELU, M. U.; HEELSTEN, Y.; SÖDERLUND, K.; BANGSBO, J. Neuromuscular blockade of slow twitch muscle fibres elevates muscle oxygen uptake and energy turnover during submaximal exercise in humans. *J Physiol*. v.586, p. 6037-6048, 2008.

KUZUYA T, HOSHIDA S, YAMASHITA N, et al. Delayed effects of sublethal ischemia on the acquisition of tolerance to ischemia. *Circ Res*, v. 72, p.1293–1299, 1993.

LACERDA, A. C. R.; MARUBAYASHI, U.; BALTHAZAR, C. H.; COIMBRA, C. C. Evidence that brain nitric oxide inhibition increases metabolic cost of exercise, reducing running performance in rats. *Neuroscience Letters*, v. 393, p.260-263, 2006.

LARSSON, J.; HULTMAN, E. The effect of long-term arterial occlusion on energy metabolism of the human quadriceps muscle. *Scand J Clin Lab Invest*, v.39, p.257-264, 1979.

LAWSON, C.S.; DOWNEY, J.M. Preconditioning: state of the art myocardial protection. *Cardiovasc Res*, Oxford, v. 27, p.542–550, 1993.

LI, G. C.; VASQUEZ, J. A.; GALLAGHER, K. P.; LUCCHESI, B. R. Myocardial protection with preconditioning. *Circulation*, v. 82, p.609–619, 1990.

LINNARSSON, D. Dynamics of pulmonary gas exchange and heart rate changes at start and end of exercise. *Acta Physiol. Scand.*415, Suppl. S1–S68, 1974.

LIU, G. S.; THORNTON J.; van WINKLE, D. M; et al. Protection against infarction afforded by preconditioning is mediated by A1 adenosine receptors in rabbit hearts. *Circulation*, v.84, p.350–356, 1991.

LIU, Y.; DOWNEY, J. M. Ischemic preconditioning protects against infarction in rat hearts. *Am J Physiol*, v.263, p.1107–1112, 1992.

LOCHNER A, MARAIS E, GENADE S, MOOLMAN JA. Nitric oxide: a trigger for classic preconditioning. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, v.279, p. 2752–1765, 2000.

MACDONALD, M.; PEDERSEN, P.K.; HUGHSON, R.L. Acceleration of VO<sub>2</sub> kinetics in heavy submaximal exercise by hyperoxia and prior high-intensity exercise. *J Appl Physiol*, Bethesda, v. 83, p. 1318-25, 1997.

MAGGIRWAR, S. B.; DHANRAJ, D. N.; SOMANI, S. M.; RAMKUMAR, V. Adenosine acts as an endogenous activator of the cellular antioxidant defence system. *Biochem Biophys Res Commun*. v.201, p.508-515, 1994.

MALLORY, L.A.; SCHEUERMANN, B.W.; HOELTING, B.D.; WEISS, M.L.; MACALLISTER, R.M.; BARSTOW, T.J. Influence of peak VO<sub>2</sub> and muscle fiber type on the efficiency of moderate exercise. *Med Sci Sports Exerc*, Maidson, v. 34, p. 1279-87, 2002.

MARWOOD, S.; ROCHE, D.; ROWLAND, T.; GARRARD, M.; UNNITHAN, V. B. Faster pulmonary oxygen uptake kinetics in trained versus untrained male adolescents. *Med Sci Sports Exerc*. v.42, p.127-134, 2010.

MCNARRY, M. A.; WELSMAN, J. R.; JONES, A. M. Influence of training status and exercise modality on pulmonary O<sub>2</sub> uptake kinetics in pubertal girls. *Eur J Appl Physiol*. Oct 14, 2010.

MILLER, WL; BELARDINELLI, L.; BACCHUS, A.; FOLEY, K. H.; RUBIO, R.; BERNE, R. M. Canine myocardial adenosine and lactate production, oxygen consumption, and coronary blood flow during stellate ganglia stimulation. *Circ Res*, v.45, p.708-718, 1979

MIURA, T.; ADACHI, T.; OGAWA, T.; et al. Myocardial infarct size-limiting effect of ischemic preconditioning: its natural decay and the effect of repetitive preconditioning. *Cardiovasc Pathol*, v.1, p.147–154, 1992.

MOGENSEN, M.; BAGGER, M.; PEDERSEN, P. K.; FERNSTROM, M.; SAHLIN, K. Cycling efficiency in humans is related to low UCP3 content and to type I fibres but not to mitochondrial efficiency. *J Physiol, Londres*, v. 571, p. 669-81, 2006.

MOGENSEN, M.; SAHLIN, K. Mitochondrial efficiency in rat skeletal muscle: influence of respiration rate, substrate and muscle type. *Acta Physiol Scand*, Stockholm, v. 185, p. 229-36, 2005.

MOORE, D. R.; BURGOMASTER, K. A.; SCHOFIELD, L. M.; GIBALA, M. J.; SALE, D. G.; PHILLIPS, S. M. Neuromuscular adaptations in human muscle following low intensity resistance training with vascular occlusion. *Eur J Appl Physiol*, v.92, p.399-406, 2004.

MORITANI, T.; SHERMAN, W. M.; SHIBATA, M.; MATSUMOTO, T.; SHINOHARA, M. Oxygen availability and motor unit activity in humans. *Eur J Appl Physiol*, v.64, p.552-556, 1992.

MURIAS, J. M; KOWALCHUK, J. M; PATERSON, D. H. Speeding VO<sub>2</sub> kinetics in response to endurance training in older and young women. *Eur J Appl Physiol*, Sep 21; Epub Sep 21. 2010.

NAKANO, A.; LIU, G. S.; HEUSCH, G.; DOWNEY, J. M.; COHEN, M. V. Exogenous nitric oxide can trigger a preconditioned state through a free radical mechanism, but endogenous nitric oxide is not a trigger of classical ischemic preconditioning. *J Mol Cell Cardiol*, v.32, p.11159–11167, 2000.

NICHOLLS, D.G. Mitochondria and calcium signalling. *Cell Calcium*, Livingstone, v. 38, p. 311-7, 2005.

NISHIDA, M.; MARUYAMA, Y.; TANAKA, R.; et al. Gai and Gao are target proteins of reactive oxygen species. *Nature*, v.408, p.492–495, 2000.

ODLAND, L. M.; HOWLETT, R. A.; HEIGENHAUSER, G. J. F.; HULTMAN, E.; SPRIET, L. L. Skeletal muscle malonyl-CoA content at the onset of exercise at varying Power outputs in humans. *A J Physiol Endocrinol Metab.* v.274, p.1080-1085, 1998.

PANG, C.Y.; YANG, R.Z.; ZHONG, A.; XU, N.; BOYD, B.; FORREST, C.R. Acute ischaemic preconditioning protects against skeletal muscle infarction in the pig. *Cardiovasc Res, Oxford*, v. 29, p.782–788, 1995.

PARK, S.; KIM, J.K.; CHOI, H.M.; KIM, H.G.; BEEKLEY, M.D.; NHO, H. Increase in maximal oxygen uptake following 2-week walk training with blood flow occlusion in athletes. *Eur J Appl Physiol, Berlin*, v. 109, p.591-600, 2010.

PHILLIPS, S.M.; GREEN, H.J.; MACDONALD, M.J.; HUGHSON, R.L. Progressive effect of endurance training on VO<sub>2</sub> kinetics at the onset of submaximal exercise. *J Appl Physiol, Bethesda*, v. 79, p. 1914-20, 1995.

POLICHNOWSKI, A. J.; ELLEN, K. H.; ALEXANDER, V. N. G. Effect of active muscle mass during ischemic exercise on peak lower leg vascular conductance. *J Appl Physiol.* v.98, p.765–771, 2005.

POOLE, D.C. Role of exercising muscle in slow component of VO<sub>2</sub>. *Med Sci Sports Exerc, Madison*, v. 26, p. 1335-40, 1994.

PRINGLE, J. S. M.; DOUST, J. H.; CARTER, H.; TOLFREY, K.; CAMPBELL, I. T.; JONES, A. M. Oxygen uptake kinetics during moderate, heavy and severe intensity 'submaximal' exercise in humans: the influence of muscle fibre type and capillarisation. *Eur J Appl Physiol*, v.89, p.289-300, 2003.

QUISTROFF, B.; JOHANSEN, L.; SAHLIN, K. Absence of phosphocreatine resynthesis in human calf muscle during ischemic recovery. *Biochem J*, v.291, p.681-686, 1992

REINHARD, U.; MÜLLER, P. H.; SCHMÜLLING, R-M. Determination of anaerobic threshold by the ventilation equivalent in normal individuals. *Respiration*, v.38, p.36-42, 1979.

REID, M.B. Role of nitric oxide in skeletal muscle: synthesis, distribution and functional importance. *Acta Physiol Scand, Stockholm*, v. 162, p. 401-9, 1998.

RICHARDSON, R.S.; HASELER, L.J.; NYGREN, A.T.; BLUML, S.; FRANK, L.R. Local perfusion and metabolic demand during exercise: a non-invasive MRI method of assessment. *J Appl Physiol, Bethesda*, v. 91, p. 1845-53, 2001.

ROMIJN, J. A.; COYLE, E. F.; SIDOSSIS, L. S.; GASTALDELLI, A.; HOROWITZ, J. F.; ENDERT, E. et al. Regulation of endogenous fat and carbohydrate metabolism in

relation to exercise intensity and duration. *Am J Physiol.* v.265, p.380-391, 1993.

ROMIJN, J. A.; COYLE, E. F.; SIDOSSIS, L. S.; ZHANG, X. J.; WOLFE, R. R. Relationship between fatty acid delivery and fatty acid oxidation during strenuous exercise. *J Appl Physiol.* v.79, p.1939-1945, 1995.

ROSSITER, H. B.; WARD, S. A.; DOYLE, V. L.; et al. Inferences from pulmonary O<sub>2</sub> uptake with respect to intramuscular [phosphocreatine] kinetics during moderate exercise in humans. *J Physiol*, v. 518(3), p.921-932, 1999.

ROSSITER, H.B.; HOWE, F.A.; WARD, S.A.; et al. Intersample fluctuations in phosphocreatine concentration determined by <sup>31</sup>P-magnetic resonance spectroscopy and parameter estimation of metabolic responses to exercise in humans. *J Physiol.* V. 528 (2), p.359-369, 2000.

ROSSITER, H.B.; WARD, S.A.; KOWALCHUK, J.M.; HOWE, F.A.; GRIFFITHS, J.R.; WHIPP, B.J. Effects of prior exercise on oxygen uptake and phosphocreatine kinetics during high-intensity knee-extension in humans. *J Physiol, Londres*, v. 537, p. 291-303, 2001.

SAITOH, T.; FERREIRA, L. F.; BARSTOW, T. J.; POOLE, D. C.; OOUE, A.; KONDO, N.; et al. Effects of prior heavy exercise on heterogeneity of muscle deoxygenation kinetics during subsequent heavy exercise. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* v.297, p.615-621, 2009.

SAITOH, T.; KOMIYAMA, T.; ARAMOTO, H.; MIYATA, T.; SHIGEMATSU, H. Ischemic preconditioning improves oxygenation of exercising muscle in vivo. *J Surg Res*, v.120, p.111-118, 2004.

SCHAEFER, S.; CARR, L. J.; PRUSSEL, E.; RAMASAMY, R. Effects of glycogen depletion on ischemic injury in isolated rat hearts: insights into preconditioning. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* v.268, p.935–944, 1995.

SCHEUERMANN, B.W.; BELL, C.; PATERSON, D.H.; BARSTOW, T.J.; KOWALCHUK, J.M. Oxygen uptake kinetics for moderate exercise are speeded in older humans by prior heavy exercise. *J Appl Physiol, Bethesda*, v. 92, p. 609-16, 2002.

SCHOTT, R. J.; ROHMANN, S.; BRAUN, E. R.; et al. Ischemic preconditioning reduces infarct size in swine myocardium. *Circ Res*, v.66, p.1133–1142, 1990.

SCHULTZ, J. E. J.; ROSE, E.; YAO, Z.; et al. Evidence for involvement of opioid receptors in ischemic preconditioning in rat hearts. *Am J Physiol*,v.268, p.2157–2161,1995.

SCHULZ, R.; POST, H.; VAHLHAUS, C.; HEUSCH, G. Ischemic preconditioning in pigs: a graded phenomenon. Its relation to adenosine and bradykinin. *Circulation*.v.98, p.1022–1029, 1998.

SEMBROWICH, W.L.; QUINTINSKIE, J.J.; LI, G. Calcium uptake in mitochondria

from different skeletal muscle types. *J Appl Physiol*, Bethesda, v. 59, p. 137-41, 1985.

SHEN, W.; XU, X.; OCHOA, M.; et al. Endogenous nitric oxide in the control of skeletal muscle oxygen extraction during exercise. *Acta Physiol Scand*, v.168, p.675–686, 2000.

SHINOHARA, M.; KOUZAKI, M.; YOSHIHISA, T.; FUKUNAGA, T. Efficacy of tourniquet ischemia for strength training with low resistance. *Eur J Appl Physiol*, v.77, p.189-191, 1998.

SPRIET, L. L. e WATT, M. J. Regulatory mechanisms in the interaction between carbohydrate and lipid oxidation during exercise. *Acta Physiol Scand*. v.178, p.443-452, 2003.

TAKARADA, Y.; NAKAMURA, Y.; ARUGA, S.; ONDA, T.; MIYAZAKI, S.; ISHII, N. Rapid increase in plasma growth hormone after low intensity resistance exercise with vascular occlusion. *J Appl Physiol*, Bethesda, v. 88, p. 61–65, 2000a.

TAKARADA, Y.; TAKAZAWA, H.; SATO, Y.; TAKEBAYASHI, S.; TANAKA, Y.; ISHII, N. Effects of resistance exercise combined with moderate vascular occlusion on muscular function in humans. *J Appl Physiol*, Bethesda, v. 88, p.2097–2106, 2000b.

THOMAS, J. R.; NELSON, J. K. **Métodos de pesquisa em atividade física**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2002.

THORNTON, J.; STRIPLIN, S.; LIU, G. Inhibition of protein synthesis does not block myocardial protection afforded by preconditioning. *Am J Physiol*, v.259, p.1822-1825, 1990.

TIMMONS, J.A.; GUSTAFSSON, T.; SUNDBERG, C.J.; JANSSON, E.; GREENHAFF, P.L. Muscle acetyl group is a major determinant of oxygen deficit in humans during submaximal exercise. *Am J Physiol*, Baltimore, v. 274, p. E377-80, 1998.

TOKUBE, K.; KIYOSUE, T.; ARITA, M. Openings of cardiac KATP channel by oxygen free radicals produced by xanthine oxidase reaction. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, v.271, p.478–489, 1996.

TONKONOOGI, M.; WALSH, B.; TIIVEL, T.; SAKS, V.; SAHLIN, K. Mitochondrial function in human skeletal muscle is not impaired by high intensity exercise. *Pflugers Arch – Eur J Physiol*, Berlin, v. 437, p. 562-8, 1999.

TSCHAKOVSKY, M. E.; HUGHSON, R. L. Interaction of factors determining oxygen uptake at the onset of exercise. *J. Appl. Physiol*, v.86, p.1101–1113, 1999.

VAHLHAUS, C.; SCHULZ, R.; POST, H.; ROSE, J.; HEUSCH, G. Prevention of ischemic preconditioning only by combined inhibition of protein kinase C and protein tyrosine kinase in pigs. *J Mol Cell Cardiol*, v.30, p.197–209, 1998.



VER DONCK, K. Purine metabolism in the heart: strategies for protection against myocardial ischaemia. *Pharm World Sci.* v.16, p.69-76, 1994.

VOLLESTAND, N. K.; VAAGE, O.; HERMANSEN, L. Muscle glycogen depletion patterns in type I and subgroup of type II fibers during prolonged severe exercise in man. *Acta Physiol Scand*, v.122, p.433-441, 1984.

WALKER, D. M.; WALKER, J. M.; PUGSLEY, W. B.; et al. Preconditioning in isolated superperfused human muscle. *J Mol Cell Cardiol*, v.27, p.1349–1357, 1995.

WASSERMAN, K.; VAN KESSEL, A. L.; BURTON, G. G. Interaction of physiological mechanisms during exercise. *Journal of Applied Physiology*, Bethesda, v.22, n.1, p.71-85, 1967.

WELTAN, S. M.; BOSCH, A. N.; DENNIS, S. C.; NOAKES, T. D. Influence of muscle glycogen content on metabolic regulation. *Am J Physiol*. v.274, p.72-82, 1998.

WESELCOUCH, E.O.; SARGENT, C.; WILDE, M.W.; SMITH, M.A. ATP sensitive potassium channels and skeletal muscle function in vitro. *J Pharmacol Exp Ther* v. 267, p.410–416, 1993.

WHIPP, B. J.; ROSSITER, H. B.; WARD, S. A. Exertional oxygen Uptake kinetics: a stamen of stamina? *Biochem Soc Trans.* v. 30, p.237–247, 2002.

WHIPP BJ. Physiological mechanisms dissociating pulmonary CO<sub>2</sub> and O<sub>2</sub> exchange dynamics during exercise in humans. *Exp Physiol*, v.92, p.347-55, 2007.

WHIPP, B. J.; WARD, S. A. Control of ventilatory dynamics during exercise. *Int J Sports Med.* v.4, p.146–159, 1981.

WILKERSON, D.P.; CAMPBELL, I.T.; JONES, A.M. Influence of nitric oxide synthase inhibition on pulmonary O<sub>2</sub> uptake kinetics during supra-maximal exercise in humans. *J Physiol, Londres*, v. 561, p. 623-35, 2004.

WILLIAMSON, J.W.; RAVEN, P.B.; WHIPP, B.J. Unaltered oxygen uptake kinetics at exercise onset with lower-body positive pressure in humans. *Exp Physiol, Cambridge*, v. 81, p. 695-705, 1996.

WILSON, D. F. Factors affecting the rate and energetics of mitochondrial oxidative phosphorylation. *Med Sci Sports Exerc*, v.26, p.37-43, 1994.

YELLON, D. M.; ALKHULAIF, A. M.; PUGSLEY, W. B. Preconditioning the human myocardium. *Lancet*, v.342, p.276–277, 1993.

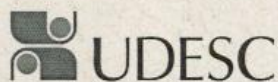
YOSHIDA, T.; WATARAI, H. Effect of circulatory occlusion on human muscle metabolism during exercise and recovery. *Eur J Appl Physiol*, v.75, p.200-205, 1997.

YTREHUS, K.; LIU, Y.; DOWNEY, J. M. Preconditioning protects ischemic rabbit heart by protein kinase C activation. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, v.266, p.1145–1152, 1994.

ZOLADZ, J.A.; SZKUTNIK, Z.; DUDA, K.; MAJERCZAK, J.; KORZENIEWSKI, B. Pre-exercise metabolic alkalosis induced via bicarbonate ingestion accelerates VO<sub>2</sub> kinetics at the onset of a high-power-output exercise in humans. *J Appl Physiol*, Bethesda, v. 98, p. 895-904, 2005.

## **ANEXO I**

**Carta de aprovação no Comitê de Ética em Pesquisa da UDESC**



UNIVERSIDADE DO ESTADO DE SANTA CATARINA  
GABINETE DO REITOR  
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA ENVOLVENDO SERES HUMANOS

Florianópolis, 30 de junho de 2010

Nº. de Referência: 64/2010

A(o) Pesquisador(a),  
**Prof. Fabrizio Caputo**

Analisamos o projeto de pesquisa intitulado “**Efeitos da condição pré-esquêmica sobre a cinética do consumo de oxigênio em bicicleta ergométrica**” enviada previamente por V. S.<sup>a</sup>. Desta forma, comunicamos que o Comitê de Ética em Pesquisa envolvendo Seres Humanos tem como resultado à **Aprovação** do referido projeto.

Este Comitê de Ética em Pesquisa segue as Normas e Diretrizes Regulamentadoras da Pesquisa Envolvendo Seres Humanos – Resolução CNS 196/96, criado para defender os interesses dos sujeitos da pesquisa em sua integridade e dignidade e para contribuir no desenvolvimento da pesquisa dentro de padrões éticos.

Gostaríamos de salientar que quaisquer alterações do procedimento e metodologia que houver durante a realização do projeto em questão e, que envolva os indivíduos participantes, deverá ser informado imediatamente ao Comitê de Ética em Pesquisa envolvendo Seres Humanos.

Duas vias do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido deverão ser assinadas pelo indivíduo pesquisado ou seu representante legal. Uma cópia deverá ser entregue ao indivíduo pesquisado e a outra deverá ser mantida pelos pesquisadores por um período de até cinco anos, sob sigilo.

Atenciosamente,

**Prof. Dr. Rudney da Silva**  
Presidente do Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos – UDESC