

# PERFIL BIOQUÍMICO DE RATOS DURANTE SESSÃO DE ESTIMULAÇÃO DIAFRAGMÁTICA ELÉTRICA TRANSCUTÂNEA

*Biochemical profile of rats during session of transcutaneous electrical diaphragmatic stimulation*

Dirceu Costa<sup>1</sup>  
Karina Maria Cancelliero<sup>2</sup>  
Carlos Alberto da Silva<sup>3</sup>

## Resumo

O objetivo deste trabalho foi avaliar a glicemia, lactacidemia e insulinemia durante a sessão de estimulação diafragmática elétrica transcutânea (EDET), além do ácido ascórbico e colesterol da glândula supra-renal e glicogênio (GLI) dos músculos respiratórios após a sessão. Ratos *Wistar* foram divididos em dois grupos (n=6): controle e submetido à EDET. Durante a sessão, amostras de sangue foram coletadas (0, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40 minutos) e encaminhadas para as análises: glicemia, lactacidemia e insulinemia. Após a sessão, o diafragma (D), intercostal (I), peitoral (P) e abdominal (A) foram encaminhados para avaliação de GLI e as glândulas supra-renais para a análise de ácido ascórbico e colesterol. A análise estatística foi feita pelo teste de normalidade e teste t ( $p < 0,05$ ), além do comportamento das curvas. Foi observado, durante a sessão, uma redução inicial na insulina e uma elevação no tempo 20º, atingindo o pico no tempo 35º. Com relação à glicemia, houve um aumento durante e após a EDET. A lactacidemia também apresentou um aumento durante a EDET, com pico no tempo 25º e retorno no tempo 40º. A concentração de ácido ascórbico não foi alterada, porém houve redução de 42,57% no colesterol. Com relação ao GLI, foi observado aumento de 66,67% no D e de 136,36% no A, além da redução de 43,33% no P, sem alteração significativa no I. Esses resultados mostram que a contração muscular passiva promovida pela EDET alterou os parâmetros bioquímicos analisados durante uma única sessão.

**Palavras-chave:** Diafragma; Estimulação elétrica; Perfil bioquímico.

<sup>1</sup> Professor Dr. do PPG - Mestrado em Fisioterapia – UNIMEP e PPG-Ft – UFSCar.

<sup>2</sup> Mestre em Fisioterapia – UNIMEP e Doutorado em Fisioterapia – UFSCar. Rua Gomes Carneiro, 875 – Centro Piracicaba – SP 13400-530 E-mail: karca@terra.com.br

<sup>3</sup> Professor Dr. do PPG - Mestrado em Fisioterapia – UNIMEP.

## Abstract

The objective of this work was to evaluate the glycaemia, lactatemia and insulinemia during the session of transcutaneous electrical diaphragmatic stimulation (TEDS), besides the ascorbic acid and cholesterol of suprarenal gland and glycogen (GLY) of respiratory muscles after the session. Male rats *Wistar* were divided in two groups (n=6): control and submitted to TEDS. During the session, blood samples were collected (0, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40 minutes) and directed for analysis: glycaemia, lactatemia and insulinemia. After the session, the diaphragm (D), intercostal (I), pectoral (P) e abdominal (A) were directed for GLI evaluation and the suprarenal glands for the ascorbic acid and cholesterol analysis. The statistical was made by the normality and t tests ( $p < 0,05$ ), besides the curves behavior. It was observed, during the session, an initial reduction in the insulin and an elevation in the time 20<sup>o</sup>, reaching the pick in the time 35<sup>o</sup>. Regarding the glycaemia there was an increase during and after TEDS. The lactatemia also presented an increase during TEDS, with pick in the time 25<sup>o</sup> and return in the time 40<sup>o</sup>. The ascorbic acid concentration wasn't altered, however there was reduction of 42,57% in the cholesterol. Regarding GLY, increase of 66,67% was observed in D and of 136,36% in the A, besides the reduction of 43,33% in P, without significant alteration in I. These results show that passive muscle contraction promoted by TEDS altered the biochemical parameters analysed during a single session.

**Keywords:** Diaphragm; Electrical stimulation; Biochemical profile.

## Introdução

O tecido muscular tem a característica de plasticidade funcional, ou seja, de se adaptar de acordo com o estímulo aplicado, como, por exemplo, a inatividade, imobilização, diferentes tipos de exercício, estimulação elétrica, nutrição, inervação. Assim como a imobilização de músculos periféricos promove hipotrofia muscular, o diafragma também pode passar por um estado de inatividade, como observado nos casos de ventilação mecânica, desencadeando o mesmo quadro ou, até mesmo, progredir para a atrofia.

Le Bourdelles et al. (1) avaliaram em ratos a ventilação mecânica com pressão positiva e observaram que tão pouco quanto 48 horas já foram suficientes para provocar atrofia do diafragma, além da redução das suas propriedades contráteis. Esta importante observação instiga outros estudos relacionados à utilização de períodos de estimulação elétrica no intuito de prevenir a atrofia muscular do diafragma em humanos.

A fisioterapia é a área que possui a estimulação elétrica como um dos recursos utilizados na reabilitação neuromuscular, sendo considerada uma modalidade útil de assistência à contração muscular para indivíduos que apresentam dificuldade na realização do exercício voluntário (2).

Uma especificidade dos recursos eletroterapêuticos é a estimulação diafragmática elétrica transcutânea, utilizada para melhorar a função ventilatória, auxiliando pacientes com fraqueza dos músculos respiratórios ou submetidos à

ventilação mecânica. Porém, além dos poucos estudos disponíveis na literatura abordando os parâmetros e benefícios desse recurso à musculatura respiratória, especialmente o músculo diafragma, são direcionados à abordagem em seres humanos. Sendo assim, as análises se limitam, principalmente, em parâmetros de mecânica respiratória e capacidades pulmonares, atendendo ao Comitê de Ética em humanos.

A literatura mostra que pacientes submetidos a treinamento muscular profilático obtiveram melhora da força e função muscular respiratória, além da melhora da oxigenação, ventilação e diminuição no tempo de hospitalização (3).

Diante disso, recentemente propusemos um protocolo de estimulação diafragmática elétrica transcutânea aplicada a ratos, permitindo a realização/exploração de novos padrões de análise então limitadas no ser humano, especialmente devido à possibilidade de acesso à musculatura respiratória e outros órgãos que podem ser influenciados pela aplicação da corrente elétrica na caixa torácica.

Uma vez que a estimulação elétrica promove contração muscular, comportando-se como exercício passivo, pode estar alterando o perfil bioquímico durante a aplicação do estímulo. Frente ao exposto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a concentração plasmática de glicose, lactato e insulina durante a sessão da estimulação diafragmática elétrica transcutânea, além de avaliar o comportamento da concentração de ácido ascórbico e colesterol da glândula supra-renal e o conteúdo

de glicogênio dos músculos respiratórios de ratos logo após a sessão.

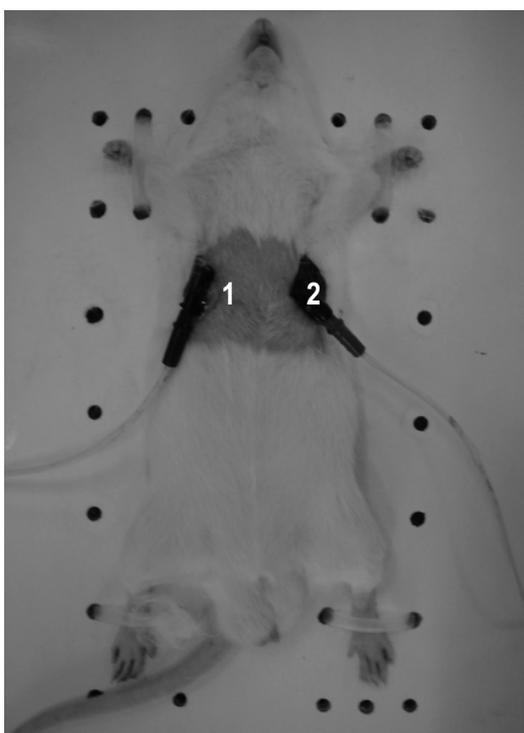
### Material e métodos

Ratos albinos *Wistar*, com idade variando de 3 a 4 meses, foram alimentados com ração e água *ad libitum*, sendo submetidos a ciclo fotoperiódico de 12h claro/escuro e divididos em dois grupos experimentais (n=6): controle – sham (C) e submetido a uma sessão de estimulação diafragmática elétrica transcutânea (EDET). Os animais foram tratados segundo recomendações do comitê de ética animal e aprovado pela comis-

são de ética na experimentação animal - CEEA-IB-UNICAMP, protocolo n.º 754-2.

A estimulação diafragmática elétrica transcutânea foi aplicada nos animais em uma única sessão de 20 minutos e a corrente se caracterizou por uma frequência de 50Hz ( $T_{ON}=2s$ ;  $T_{OFF}=2s$ ), largura de fase de 0,4ms, intensidade de 5.0mA, sendo que a cada 3 minutos foi aplicado um acréscimo de 1.0mA, acompanhando a proposta de Cancellero et al. (comunicação pessoal). O equipamento utilizado foi o Dualpex 961 (QUARKÒ), além de gel de acoplamento e dois eletrodos de silicone-carbono (1,5x2,0cm), que foram posicionados na região lateral do tórax (entre a 4.<sup>a</sup> e 6.<sup>a</sup> costela) (Figura 1).

*Figura 1. Estimulação diafragmática elétrica transcutânea realizada no animal por meio de dois eletrodos de superfície (1 e 2) acoplados com gel na região lateral do gradil costal, entre a 4.<sup>a</sup> e a 6.<sup>a</sup> costela.*



Durante a sessão, amostras de sangue foram coletadas, em vários tempos, por meio da veia femoral, centrifugadas e alíquotas plasmáticas foram encaminhadas para as análises: glicemia pelo glicosímetro, lactacidemia pelo lactímetro (AccusportÒ) e insulinemia (ng/ml) pela técnica de radioimunoensaio. Os tempos de amostragem

foram: 0 (início da sessão), 5.<sup>o</sup>, 10.<sup>o</sup>, 15.<sup>o</sup>, 20.<sup>o</sup> (término da sessão), 25.<sup>o</sup>, 30.<sup>o</sup>, 35.<sup>o</sup> e 40.<sup>o</sup> minuto (pós-sessão).

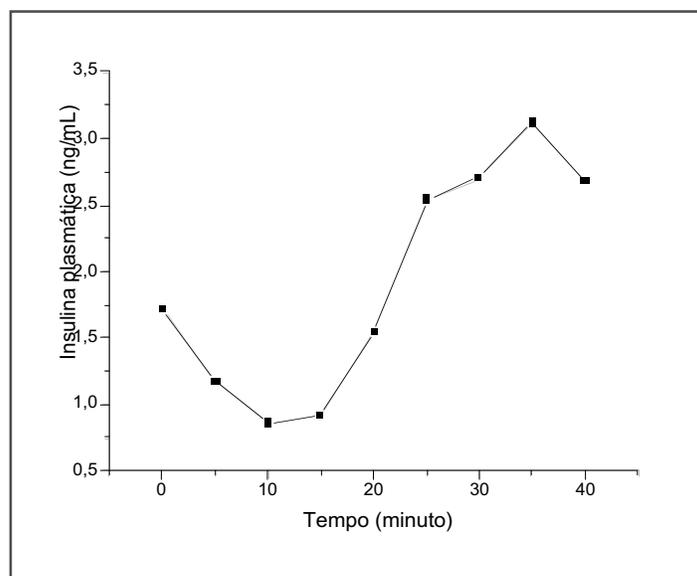
Para o grupo controle – sham, o mesmo procedimento foi realizado, porém sem a aplicação da estimulação elétrica.

Amostras dos músculos diafragma, inter-

costal, peitoral e abdominal foram retiradas e encaminhadas para avaliações do conteúdo de glicogênio (4) e as glândulas supra-renais encaminhadas para a análise da concentração de ácido ascórbico (5) e da concentração de colesterol (método colorimétrico – *kit* laboratorial).

Para os dados glicogênio muscular, ácido ascórbico e colesterol, a análise estatística foi realizada por teste de normalidade Kolmogorov-Smirnov inicialmente, e como os dados apresentaram distribuição normal, o teste t foi aplicado, com nível de significância de 5% ( $p < 0,05$ ). Para as análises da glicemia, lactacidemia e insulinemia, a avaliação foi por meio da análise do comportamento das curvas.

**Figura 2.** Valor da média da concentração de insulina plasmática (ng/mL) durante a sessão de estimulação elétrica (20 minutos, tempos 0 a 20) nos tempos (minutos) 25, 30, 35 e 40 (após a sessão).



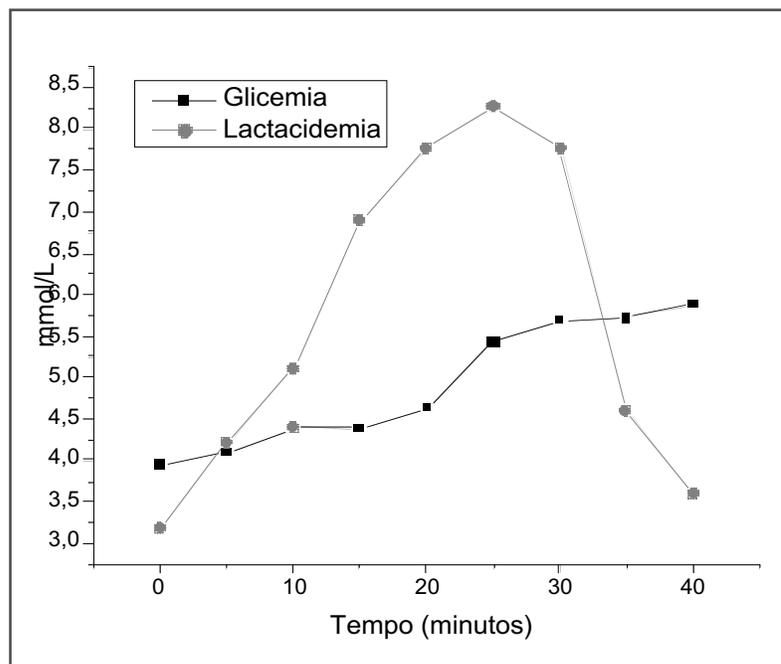
Com relação à glicemia (mmol/L), houve um aumento progressivo durante a EDET perdurando no período pós-sessão, porém esse aumento se manteve em concentrações de normalidade, não promovendo hiperglicemia. A lactacidemia (mmol/L) também apresentou aumento progressivo durante a estimulação elétrica, porém no tempo 25<sup>o</sup> atingiu o pico ( $8,27 \pm 0,47$ ) e retornou aos níveis de normalidade no tempo 40<sup>o</sup> (figura 3).

## Resultados

Durante a sessão de EDET foi observada uma redução inicial da concentração de insulina plasmática e uma elevação no tempo 20.<sup>o</sup>, sendo que os valores (média $\pm$ dpm, ng/mL) foram, respectivamente, nos tempos 0, 5, 10, 15 e 20:  $1,72 \pm 0,23$ ;  $1,18 \pm 0,37$ ;  $0,86 \pm 0,18$ ;  $0,92 \pm 0,56$  e  $1,54 \pm 0,42$ . Após a finalização da sessão, a insulina continuou a se elevar, atingindo o pico no tempo 35.<sup>o</sup>, sendo os valores (média $\pm$ dpm, ng/mL):  $2,54 \pm 0,32$ ;  $2,71 \pm 1,02$ ;  $3,12 \pm 0,17$ ;  $2,68 \pm 1,57$ , respectivamente, nos tempos 25, 30, 35, 40 (Figura 2).

No grupo controle – sham, o qual não recebeu a estimulação elétrica, não houve alteração nas concentrações plasmáticas de glicose ( $5,22 \pm 1,17$  mmol/L) lactacidemia ( $4,52 \pm 0,31$  mmol/L) e insulinemia ( $4,52 \pm 0,31$  ng/mL) durante esse mesmo período, mantendo concentrações normais e, assim, não estão representadas nas figuras.

Figura 3. Valor da média da concentração de glicemia e lactacidemia (mmol/L) durante a sessão de estimulação elétrica (20 minutos, tempos 0 a 20) nos tempos (minutos) 25, 30, 35 e 40 (após a sessão).



Findada a análise durante o período de estimulação elétrica, foram coletadas as glândulas adrenais para analisar a concentração de ácido ascórbico (mg/mg), a qual não se alterou em relação ao grupo controle (C:  $6,35 \pm 0,27$ ; EDET:  $7,00 \pm 0,58$ ), por outro lado, a concentração de colesterol (mg/dL) foi menor (42,57%,  $p < 0,05$ ) na presença do recurso (C:  $108,4514,95$  x EDET:  $62,28 \pm 14,96$ ).

A concentração de glicogênio (mg/100mg) dos músculos respiratórios após a sessão foi maior em 66,67% ( $p < 0,05$ ) no diafragma (Média $\pm$ epm, C:  $0,21 \pm 0,008$  x EDET:  $0,35 \pm 0,04$ ) e em 136,36% no abdominal (C:  $0,22 \pm 0,01$  x EDET:  $0,52 \pm 0,07$ ) e menor em 43,33% no peitoral (C:  $0,30 \pm 0,05$  x EDET:  $0,17 \pm 0,02$ ,  $p < 0,05$ ), sem haver alteração significativa no intercostal (C:  $0,32 \pm 0,08$  x EDET:  $0,20 \pm 0,02$ ,  $p > 0,05$ ).

## Discussão

Segundo Nelson e Cox (6), o exercício físico estimula a secreção de catecolaminas pela supra-renal que agem nos músculos e fígado, ativando a enzima glicogênio fosforilase, promovendo

do a glicogenólise, ao mesmo tempo inibindo a enzima glicogênio sintetase. Nos primeiros minutos do exercício, o músculo esquelético utiliza-se da glicose livre citosólica e do próprio reservatório de glicogênio enquanto as células hepáticas são estimuladas a liberar a glicose no plasma proveniente da glicogenólise.

O glicogênio é o principal reservatório energético muscular, preferencialmente mobilizado durante o exercício físico. No estudo de Lees et al. (7), a contração muscular resultou na diminuição na concentração de glicogênio muscular, também verificado por Johnson et al. (8) no músculo vasto lateral de humanos após a estimulação elétrica.

O período após o exercício é também caracterizado pelo aumento substancial na sensibilidade à insulina, que promove translocação de GLUT4 insulino-dependente e conseqüente captação de glicose, fenômeno restrito aos músculos exercitados (9). O conteúdo muscular de glicogênio é um componente importante no fornecimento de energia durante a realização do exercício (10), sendo que níveis elevados podem melhorar a resistência, enquanto que a depleção está freqüentemente associada à fadiga muscular (11).

O aumento na sensibilidade à insulina pós-exercício parece ser conseqüência de melho-

ra dos eventos pós-receptor de insulina, isto é, na fosforilação de proteínas que iniciam as ações do hormônio (12).

O músculo peitoral é classificado como acessório da inspiração, diferente do diafragma e intercostais, considerados músculos principais. Este fato pode explicar o comportamento diferenciado do peitoral durante a maior demanda respiratória induzida pela EDET, o qual passou a ser mais solicitado, reduzindo o conteúdo de glicogênio.

Apesar do intercostal não apresentar diferença estatística, o diafragma apresentou aumento significativo nas reservas glicogênicas após a sessão da EDET. Cabe ressaltar que o diafragma é um músculo com atividade 24 horas por dia durante a inspiração, ou seja, o estímulo é constante em cada curso inspiratório e ao ser estimulado se comportou de maneira diferente do peitoral. Este fato também ocorreu no abdominal, que é recrutado somente na expiração forçada, já que esse movimento é passivo. Apesar de não ser classificado como músculo principal, os abdominais exercem outras funções importantes como, por exemplo, estabilizar a base do tórax durante a inspiração, além de proporcionar uma importante proteção das vísceras (13).

O aumento nas reservas glicogênicas, observadas nos músculos abdominal e diafragma, pode ser explicado por uma taxa aumentada na captação de glicose e ativação das vias responsáveis pela glicogênese e menor oxidação da hexose. Segundo Goodyear et al. (14), o aumento na atividade contrátil induzida pelo exercício físico favorece a captação de glicose pelas fibras musculares, cujo mecanismo é explicado pela translocação de GLUT4 insensíveis à insulina de reservatórios citosólicos para a membrana. Há evidências de que há dois espaços intracelulares distintos de transportadores de glicose no músculo esquelético, um responde pelo exercício e outro pela insulina (15). O exercício induz uma melhora na sensibilidade do músculo à insulina, sendo que seus efeitos podem durar por várias horas após o término (16).

Forti et al. (17) estudaram o perfil bioquímico em ratos que receberam estimulação elétrica no membro inferior e avaliaram a glicemia e lactacidemia, constatando que estes parâmetros foram alterados durante a estimulação, além de uma expressiva redução no conteúdo de glicogênio dos músculos periféricos, logo após a sessão.

Um achado importante do estudo de Hamada et al. (2) foi que a captação de glicose

corporal é agudamente aumentada em resposta a 20 minutos de estimulação elétrica e este aumento perdura por pelo menos 90 minutos após a finalização. Neste sentido, esse estudo reitera e corrobora com esta resposta fisiológica.

Esses resultados mostram a especificidade do comportamento muscular frente ao estímulo aplicado, como mostra esse experimento com estimulação diafragmática elétrica transcutânea, apontando uma hierarquia funcional no processo respiratório.

Dentre as glândulas estimuladas durante o exercício físico, destaca-se a supra-renal, responsável pela secreção dos hormônios adrenalina e noradrenalina (medula adrenal) e corticosteróides (córtex adrenal), que são divididos em glicocorticóides, mineralocorticóides e androgênios. Dentre os efeitos das catecolaminas, estão: aumento na taxa metabólica, aumento na glicogenólise (fígado e músculo), aumento da força de contração do coração, aumento na liberação de glicose e ácidos graxos livres para a corrente sanguínea, vasodilatação nos músculos exercitados e vasoconstrição em vísceras e na pele, aumento da pressão arterial e aumento da respiração (18).

Dois hormônios secretados durante o exercício pelo córtex da glândula supra-renal são: os mineralocorticóides, que atuam no sentido da manutenção da concentração de líquidos corporais gerando aumento na pressão arterial e os glicocorticóides, responsáveis por várias adaptações do organismo, como: durante o exercício ocorre mudança no metabolismo energético muscular, disponibilizando mais intensamente a glicose para o tecido neural, além de promover mobilização das reservas lipídicas, gerando ácidos graxos e estimular o catabolismo protéico fornecendo, assim, outras fontes de energia e/ou substratos neoglicogênicos. Segundo Canali e Kruel (19), a dinâmica secretória do cortisol durante o exercício é de difícil diagnóstico, pois há muita variabilidade no tipo e intensidade do exercício, nível de treinamento, estado nutricional e ritmo circadiano.

Nesse trabalho, foram também analisados o comportamento da glicemia e insulinemia durante a sessão de estimulação diafragmática elétrica transcutânea, já que durante o exercício os hormônios glucagon e insulina, importantes no controle glicêmico, são alterados. Segundo Guyton e Hall (20), o glucagon, juntamente com o cortisol

e catecolaminas são responsáveis pelo aumento na glicemia, mas no estudo de Fernández-Pastor (21) foi observado que no início do exercício a secreção de glucagon é mais rápida até o 15º minuto se comparado aos demais hormônios e que a sua secreção é proporcional à duração do exercício. Vale ressaltar que variação na flutuação hormonal é dependente tanto do tipo do exercício, quanto do condicionamento do indivíduo.

Isso corrobora com os resultados desse estudo, observado pelo aumento tênue da glicose plasmática durante a sessão, perdurando após 20 minutos. Esse aumento se manteve na faixa de concentrações normoglicêmicas, não sendo observado hiperglicemia.

Com relação à insulina, hormônio contra-regulador do glucagon, houve uma queda na concentração plasmática durante a sessão de estimulação elétrica seguido de aumento após a sessão. Segundo Deuschle et al. (22), como o exercício estimula a liberação de glucagon, e esse hormônio pela via parácrina atua inibindo a secreção de insulina, principalmente para favorecer a maior disponibilidade de glicose para a atividade. Além disso, as catecolaminas, cuja concentração é aumentada durante o exercício, também inibem a secreção. Após a sessão, há uma pequena elevação na insulinemia, refletindo o comportamento de retorno à condição de equilíbrio uma vez que havia o domínio de um sistema de bloqueio do processo secretório da insulina.

A lactacidemia também foi acompanhada durante a sessão e foi observado aumento com o pico em cinco minutos após a finalização da sessão, seguida de redução e retorno à normalidade, demonstrando que a taxa de produção acha-se em equilíbrio com a remoção.

Estudos mostram que a concentração plasmática de lactato depende da relação entre a velocidade com que é produzido pelo músculo e a velocidade com que é removido, começando a se elevar no plasma quando a intensidade do exercício chega a 50-60%VO<sub>2</sub> máximo (23). Com a glicólise muscular acelerada, devido à necessidade de energia, e impulsionada pela ação das catecolaminas, a produção de ácido láctico aumenta nas mesmas proporções e este é lançado à corrente sanguínea sob a forma de lactato, representado pela elevação na sua concentração no plasma.

Os mecanismos envolvidos no acúmulo de lactato durante o exercício são diversos, porém

um dos principais mecanismos envolve a maior participação da glicólise anaeróbia na produção de energia. O retorno aos níveis normais se deve à oxidação pela própria musculatura esquelética, pela musculatura cardíaca e em menor proporção pela conversão em glicose pelo fígado enquanto substrato gliconeogênico (24).

Porém, quando a oferta de energia e oxigênio começa a ser insuficiente e a glicólise passa a ocorrer de forma mais acelerada para se obter energia mais rapidamente, num catabolismo anaeróbio, desequilibra-se o sistema de produção e utilização de lactato, já que uma aceleração na glicólise aumenta proporcionalmente a concentração plasmática de lactato. Porém, as células hepáticas não conseguem realizar a gliconeogênese na mesma velocidade, havendo um acúmulo de lactato sanguíneo (6).

Com relação à concentração de ácido ascórbico e colesterol na glândula supra-renal, foi observada somente alteração significativa no colesterol, representada por diminuição no grupo que recebeu a EDET. Sayers (25) já demonstrou, em 1949, que a glândula adrenal de ratos submetidos a situações como exposição ao frio, lesões ou outras condições estressoras apresentavam diminuição das concentrações de colesterol e de ascorbato.

Azevedo (26) relatou que há inúmeros experimentos com glândula adrenal demonstrando que a redução no colesterol, precursor dos esteróides corticais, coincide com a queda do ascorbato. Porém, nesse estudo, o conteúdo de ácido ascórbico não se alterou como o colesterol, sugerindo que a EDET interferiu parcialmente no processo da formação dos hormônios, indicando que há um estímulo primário eficaz, porém não totalmente efetivo para promover elevação na síntese hormonal.

## Conclusão

Diante dessas observações, pode-se concluir que a EDET é uma técnica fisioterapêutica cuja aplicabilidade leva a alterações nas concentrações plasmáticas de glicose, lactato e insulina, além das respostas glicogênicas musculares e do estímulo precursor das vias de formação dos hormônios contra-reguladores da glicemia. Vale ressaltar que é importante a continuidade desse

estudo experimental em animais para melhor entendimento dos efeitos gerados pelo recurso elétrico, buscando a qualidade de vida de pacientes que necessitam da fisioterapia respiratória.

## Referências

1. Le Bourdelles G, Viires N, Boczkowski J, Seta N, Pavlovic D, Aubie M. Effects of mechanical ventilation on diaphragmatic contractile properties in rats. **Am J Respir Crit Care Med** 1994;153:787-793.
2. Hamada T, Sasaki H, Hayashi T, Moritani T, Nakao K. Enhancement of whole body glucose uptake during and after human skeletal muscle low-frequency electrical stimulation. **J Appl Physiol** 2003;94:2107-2112.
3. Green RH, Singh SJ, Williams J, Morgan MD. A randomized controlled trial of four weeks versus seven weeks of pulmonary rehabilitation in chronic obstructive pulmonary disease. **Thorax** 2001;56:143-145.
4. Siu LO, Russeau JC, Taylor AW. Determination of glycogen in small tissue samples. **J Appl Physiol** 1970;28(2):234-236.
5. Mindklin RL, Butler RH. The determination of ascorbic acid: a micromethod. **J Biol Chem** 1938;122:673-686.
6. Nelson DL, Cox MM. **Lehninger princípios de bioquímica**. 3. ed. São Paulo: Sarvier, 2002.
7. Lees SJ, Franks PD, Spangenburg EE, Williams JH. Glycogen and glycogen phosphorylase associated with sarcoplasmic reticulum: effect of fatiguing activity. **J Appl Physiol** 2001;91:1638-1644.
8. Johnson MJ, Lortie G, Simoneau JA, Boulay MR. Glycogen depletion of human skeletal muscle fibers in response to high frequency electrical stimulation. **Can J Appl Physiol** 2003;28(3):424-433.
9. Munoz C, López-Luna P, Herrera E. Treadmill training enhances glucose tolerance more in pregnant rats. **Biol Neonate** 1999;75:337-342.
10. Bacurau RF. **Nutrição e suplementação esportiva**, 2. ed. São Paulo: Phorte, 2001, pp.109-113.
11. Shulman RG, Rothman DL. The “glycogen shunt” in exercise muscle: A role for glycogen in muscle energetics and fatigue. **PNAS** 2000;98(2):457-461.
12. Kirwan JP, del Aguila LF, Hernandez JM, Williamson DL, O’Gorman DJ, Lewis R et al. Regular exercise enhances insulin activation of IRS-1 associated PI3-kinase in human skeletal muscle. **J Appl Physiol** 2000;88(2):797-803.
13. Brandt AC, Ricieri DV, Griesbach LES. Repercussões respiratórias da aplicação da técnica de isostretching em indivíduos saudáveis. **Revista Fisioterapia Brasil** 2004;5(2):103-110.
14. Goodyear LJ, Hirshman MF, Valyou PM, Horton ES. Glucose transporter number, function, and subcellular distribution in rat skeletal muscle after exercise training. **Diabetes** 1992;41:1091-1099.
15. Franch J, Aslesen R, Jensen J. Regulation of glycogen synthesis in rat skeletal muscle after glycogen-depleting contractile activity: effects of adrenaline on glycogen synthesis and activation of glycogen synthase and glycogen phosphorylase. **Biochem J** 1999;344: 231-235.
16. Goodyear LJ, Kahn BB. Exercise, glucose transport, and insulin sensitivity. **Annu Rev Med** 1998; 49:235-261.
17. Forti F, Cancelliero KM, Passini H, Silva CA, Guirro RRJ. Perfil bioquímico seriado coletado no membro posterior de ratos durante sessão de estimulação elétrica. Anais da XIX Reunião Anual da FeSBE, Águas de Lindóia – SP, p.83, 2004.
18. Berne RM, Levy MN. **Fisiologia**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996.
19. Canali ES, Kruehl LFM. Respostas hormonais ao exercício. **Rev Paul Educ Fis** 2001; 15(2):141-153.
20. Guyton AC, Hall JE. **Tratado de fisiologia médica**. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1997.
21. Fernández-Pastor VJ, Alvero JR, Pérez F, Ruiz M, Fernández-Pastor JM, Diego AM. Niveles de glucosa, glucagon y hormona Del crecimiento plasmáticos em sujetos sedentários y entrenados em respuesta a ejercicio máximo. **Arch Med Deporte** 1992;9(36): 355-360.

22. Deuschle M, Blum WF, Frystyk J, Orskov H, Schweiger U, Weber B et al. Endurance training and its effect upon the activity of the GH-IGFs system in the elderly. *Int J Sports Med* 1998;19(4):250-254.
23. Foss ML, Keteyian SJ. Bases fisiológicas do exercício e do esporte. 6.ed. São Paulo: Manole, 2000.
24. Bonen A. Lactate transports (MCT proteins) in heart and skeletal muscles. *Med Sci Sports Exerc* 2000;32:778-789.
25. Coutinho R. **Noções de fisiologia da nutrição**. 2. ed. Rio de Janeiro: Cultura Médica e MEC, 1981.
26. Azevedo JRM. **Determinação de parâmetros bioquímicos em ratos sedentários e treinados durante e após o exercício agudo de natação**. 1994, 175p. Dissertação (Doutorado) - Departamento de Fisiologia e Biofísica – I.B. – UNICAMP, Campinas.

Recebido em: 06/06/2005

Received in: 06/06/2005

Aprovado em: 08/02/2006

Approved in: 02/08/2006