

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
DEPARTAMENTO DE EDUCAÇÃO FÍSICA  
PROGRAMA ASSOCIADO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM  
EDUCAÇÃO FÍSICA

**MARIA LETÍCIA GIUBLIN TEIXEIRA SANCHES MORI**

---

ALTERAÇÕES MORFOFUNCIONAIS EM  
RATOS SUPLEMENTADOS COM ÓLEO DE  
FARELO DE ARROZ E SUBMETIDOS A  
TREINAMENTO FÍSICO

---

Maringá  
2011

**MARIA LETÍCIA GIUBLIN TEIXEIRA SANCHES MORI**

---

**ALTERAÇÕES MORFOFUNCIONAIS EM RATOS  
SUPLEMENTADOS COM ÓLEO DE FARELO DE  
ARROZ E SUBMETIDOS A TREINAMENTO  
FÍSICO**

---

Dissertação de Mestrado  
apresentada ao Programa Associado  
de Pós-Graduação em Educação  
Física – UEM/UEL, para obtenção do  
título de Mestre em Educação Física.

**Orientador: Profa. Dra. Solange Marta Franzói de Moraes**

Maringá  
2011

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)  
(Biblioteca Central - UEM, Maringá – PR., Brasil)

M854a Mori, Maria Letícia Giublin Teixeira Sanches  
Alterações morfofuncionais em ratos suplementados com  
óleo de farelo de arroz e submetidos a treinamento físico  
/ Maria Letícia Giublin Teixeira Sanches Mori. -- Maringá,  
2011.  
84 f. : il., figs., tabs.

Orientador: Prof.a Dr.a Solange Marta Franzói de Moraes.  
Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de  
Maringá, Centro de Ciências da Saúde, Departamento de  
Educação Física, Programa de Pós Graduação Associado em  
Educação Física UEM/UEL, 2011

1. Gama Orizanol 2. Oléo de farelo de arroz. 3.  
Exercícios físicos. I. Moraes, Solange Marta Franzói,  
orient. II. Universidade Estadual de Maringá. Centro de  
Ciências da Saúde. Departamento de Educação Física.  
Programa de Pós Graduação Associado em Educação Física  
UEM/UEL. III. Título.

CDD 21.ed. 612.044

ECSL-00067

---

MARIA LETÍCIA GIUBLIN TEIXEIRA SANCHES MORI

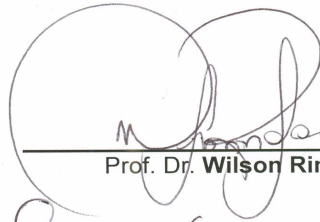
**ALTERAÇÕES MORFOFUNCIONAIS EM RATOS  
SUPLEMENTADOS COM ÓLEO DE FARELO DE  
ARROZ E SUBMETIDOS A TREINAMENTO FÍSICO**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual de Maringá, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação Associado em Educação Física – UEM/UEL, na área de concentração em Estudos do Movimento Humano, para obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 22 de agosto de 2011.



Prof. Dr. **Claudio Alexandre Gobatto**



Prof. Dr. **Wilson Rinaldi**



Profa. Dra. **Solange Marta Franzói de Moraes**  
(Orientadora)

# Dedicatória

---

---

*Dedico este trabalho as pessoas mais importantes da minha vida, meus pais, meu esposo e principalmente ao meu filho João Pedro.*

# Agradecimentos

---

---

*Agradeço primeiramente a Deus, pela vida, por colocar pessoas maravilhosas no meu caminho para me ajudarem e por me dar forças e bênçãos para chegar até aqui.*

*Aos meus pais Diogenes e Vera pelo eterno esforço, dedicação e apoio e ajuda em toda a minha jornada.*

*Ao meu esposo Paulo pelo apoio e pela compreensão, estando sempre ao meu lado.*

*Ao meu filho querido João Pedro pelo amor incondicional e meu anjinho fortalecedor em todos os momentos, mesmo tendo que abrir mão por algumas horas ou dias do meu convívio durante todo o tempo do mestrado para que a conclusão desse curso fosse possível.*

*Ao meu irmão Diogo pela força, apoio e ajuda durante todo esse período.*

*À minha querida madrinha Eloah pela força e incentivo durante esses anos.*

*A minha orientadora Solange, que se mostrou sempre pronta para ajudar e ensinar, tornando possível a realização desse trabalho que contribuiu de forma significativa para minha formação acadêmica.*

*A Maynara, Lidyane e Mara por estarem comigo durante todo esse trabalho. Grandes parceiras que estiveram junto comigo desde o começo do projeto, nos experimentos, ate a conclusão do trabalho propriamente dito.*

*À Professora Raquel, que contribuiu muito com a parte de análise histológica do meu trabalho.*

*À Valéria e Elizete, técnicas do laboratório de fisiologia que sempre mostraram-se dispostas a ensinar e ajudar da melhor forma possível.*

*À Maria Angela, Dos Anjos e Eurides, técnicas do laboratório de histologia.*

*Aos meus amigos do mestrado pela amizade no decorrer de todo o curso.*

*Enfim, meus sinceros agradecimentos a essas pessoas que contribuíram direta e indiretamente para que concluísse essa etapa acadêmica.*

MORI, Maria Letícia Giublin Teixeira Sanches. **Alterações morfofuncionais em ratos suplementados com óleo de farelo de arroz e submetidos a treinamento físico**. 2011. 84f. Dissertação (Mestrado em Educação Física) – Centro de Ciências da Saúde. Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2011.

## **RESUMO**

---

---

A utilização e as opções de recursos ergogênicos existentes no mercado para aumentar o desempenho em praticantes de esportes de alta intensidade vêm crescendo, paralelo ou não as comprovações científicas. Dentre essas opções, encontra-se em expansão o uso do óleo de farelo de arroz (OFA), rico em gama- orizanol (JULIANO et al., 2005). Os estudos acerca óleo de farelo de arroz sob condições de exercício físico são escassos, e com treinamento intervalado, raros. Desta forma, este trabalho pretende contribuir para um entendimento sobre os efeitos da suplementação do óleo de farelo de arroz na composição corporal e no metabolismo das gorduras. O objetivo geral desse trabalho é analisar as alterações morfofisiológicas em ratos suplementados com óleo de farelo de arroz rico em gama- orizanol e submetidos a treinamento físico intervalado em esteira rolante e os objetivos específicos são avaliar a influência da suplementação de óleo de farelo de arroz em diferentes concentrações na evolução do peso corporal e adiposidade de ratos sedentários e treinados, caracterizar o perfil lipídico, através de dosagens plasmáticas de colesterol total, das frações de colesterol (HDL e LDL) e triglicerídeos, nos diferentes grupos experimentais, quantificar o teor de glicose circulante e glicogênio muscular como biomarcadores de carboidratos, verificar os níveis de testosterona decorrentes da suplementação do OFA e do treinamento físico; analisar alterações nas fibras musculares através da tipagem muscular e das áreas celulares. Foram utilizados 24 ratos machos Wistar, com 60 dias, divididos em 6 grupos, sendo SC, SG3, SG6, TC, TG3 e TG6. O treinamento físico intervalado foi realizado por 6 semanas. Os grupos controles receberam óleo de milho e os grupos suplementados receberam farelo de arroz através de gavagem após o exercício. Os resultados encontrados foram redução significativa do peso corporal final em todos os grupos, nos coxins adiposos apenas as gorduras viscerais mostraram diferença significativas, porém não em todos os grupos. Nas gorduras periféricas nenhuma diferença significativa foi observada. Houve uma redução do CT para os animais TG3, LDL reduziu em todos os grupos e a razão CT/HDL não diferiram entre os grupos, os níveis de triglicerídeos foram significativamente menores para os G3, e para SG6. Já nos níveis de glicose no plasma não houve diferença entre os grupos, no glicogênio muscular o G6 tiveram seus níveis aumentados, e os níveis de testosterona não apresentaram diferença. No âmbito de fibras musculares, quanto à frequência das fibras o resultado encontrado foi redução das fibras oxidativas nos grupos T, e nas fibras glicolíticas o SG3 teve aumento, e na somatória total das fibras os aumentos significativos foram G3. Já na área das fibras musculares, a tipo I não apresentou aumento, na Ila apenas o grupo SG6 e na IIb todos os grupos apresentaram um aumento, porem o TC obteve um aumento de 53%. Conclui-se

que o exercício físico realizado por meio da esteira rolante e a suplementação de óleo de farelo de arroz rico em gama orizanol (OFA) induziram mudanças morfológicas no tecido adiposo e no tecido muscular. De modo geral, a associação entre o treinamento intervalado e suplementação de OFA sinalizam para uma resposta ergogênica positiva, mas são necessários mais estudos ampliando as investigações a níveis moleculares.

Gama Orizanol, exercício físico e ratos



MORI, Maria Letícia Giublin Teixeira Sanches. **Morphofunctional changes in rats supplemented with rice bran oil and subjected to physical training** 2011. 84f. Dissertação (Mestrado em Educação Física) – Centro de Ciências da Saúde. Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2011.

## **ABSTRACT**

---

---

The use and ergogenic resource options in the market to increase performance in sports athletes have been growing high-intensity, parallel or not the scientific evidence. Among these options, is expanding the use rice brain oil (RBO), rich in gamma-oryzanol (Juliano et al., 2005). Studies on rice brain oil under conditions of exercise are scarce, and interval training, rare. Thus, this work aims to contribute to an understanding of the effects of supplementation of rice bran oil on body composition and metabolism of fats. The aim of this study is to analyze the morphophysiological changes in rats supplemented with rice bran oil rich in gamma-oryzanol and subject to physical training on a treadmill intervals and specific objectives are to evaluate the influence of supplementation of rice bran oil in different concentration in the evolution of body weight and adiposity of sedentary and trained rats, to characterize the lipid profile through plasma levels of total cholesterol, cholesterol fractions (HDL and LDL) and triglycerides in the different experimental groups to quantify the glucose content current and muscle glycogen as biomarkers of carbohydrate, check testosterone levels resulting from the RBO supplementation and physical training, to analyze changes in muscle fiber by typing muscle and cellular areas. We used 24 male Wistar rats, 60 days, divided into six groups, SC, SG3, SG6, TC, TG3 and TG6. The interval exercise training was realized for 6 weeks. The control groups received corn oil and supplemented groups received rice bran through gavage after exercise. The results were significant reduction in final body weight in all groups, only the fatty pads in visceral fat showed significant difference, but not in all groups. In peripheral fat no significant difference was observed. There was a reduction of CT for animals TG3, LDL decreased in all groups and CT/HDL did not differ between groups, triglyceride levels were significantly lower for G3, and muscle glycogen levels had increased, and testosterone levels did not differ. In the muscle fibers, as the frequency of fibers the result found was reduce in the oxidative fibers in groups T and in glycolytic fibers SG3 had increased, and the sum total of the fibers were significant increases in G3. In the area of muscle fibers, type I showed no increase, in IIa only the groups SG6 and IIb all groups showed an increase, but the TC got a 53% increase. Concludes that exercise realized by treadmill and supplementation of rice bran oil rich in gamma-oryzanol (RBO) induced morphometric changes in adipose tissue and muscle. In general, the association between interval training and supplementation with RBO indicate a positive ergogenic response, but further studies are needed to expand research molecular levels.

Gamma oryzanol, exercise and rats.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 -** Técnica histoquímica pelo método da Nicotinamida adenina dinucleotideo tetrazolio redutase (NADH-TR), para identificação dos diferentes tipos de fibras no tecido muscular (fibra tipo I; fibra tipo IIa e fibra tipo IIb) ..... 29
- Figura 2** Somatório dos coxins adiposos de ratos sedentários (S) e treinados (T) após 6 semanas de suplementação com óleo de farelo de arroz rico em gama-orizanol. Animais do grupo controle (C), óleo de farelo de arroz na dosagem de 0,3 mL (G3), 0,6 mL (G6). Valores indicam a mediana e a diferença entre o 1º e 3º quartis, n = 4 animais, \* em relação ao grupo sedentário controle (SC). p<0,05 ..... 33
- Figura 3** Em **A)** Glicose plasmática (mg/dL) e em **B)** Glicogênio muscular (mg/100g) de ratos sedentários (S) e treinados (T) após 6 semanas de suplementação com óleo de farelo de arroz rico em gama-orizanol. Animais do grupo controle (C), óleo de farelo de arroz na dosagem de 0,3 mL (G3), 0,6 mL (G6). Valores indicam a mediana e a diferença entre o 1º e 3º quartis, n = 4 animais, \* em relação ao grupo sedentário controle (SC). p<0,05 ..... 35
- Figura 4** Níveis de testosterona (ng/mL) de ratos sedentários (S) e treinados (T) após 6 semanas de suplementação com óleo de farelo de arroz rico em gama-orizanol. Animais do grupo controle (C), óleo de farelo de arroz na dosagem de 0,3 mL (G3), 0,6 mL (G6). Valores indicam a mediana e a diferença entre o 1º e 3º quartis, n = 4 animais ..... 36
- Figura 5** Quantidade total de fibras (somatório entre tipo I, IIa e IIb) de animais suplementados com óleo de arroz rico em gama orizanol em diferentes concentrações e submetidos ao treinamento físico. Dados foram quantificados através de técnica NADH-TR. Os valores mostram a mediana e a diferença entre o 1º e 3º quartis de 4 animais por grupo. § em relação ao grupo TC, # em relação aos demais grupos e + em relação ao TG6. p<0,05 ..... 38

# LISTA DE QUADRO

---

---

<b>Quadro 1</b>	Protocolo de treinamento intervalado moderado em esteira rolante, demonstrado em semanas de treinamento, velocidade mínima e máxima de cada semana, tempo de treino e de recuperação e quantidade de séries executadas .....	24
-----------------	--	----

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1 -</b>	Peso corporal de animais sedentários (S) ou submetidos a 6 semanas de treinamento intervalado (T) e suplementação de óleo de farelo de arroz rico em gama-orizanol na dosagem de 0,3 mL (G3) e 0,6 mL (G6) por animal ou óleo de milho (C) .....	31
<b>Tabela 2 -</b>	Coxins adiposos de diferentes regiões corporais de ratos controles (C) e suplementados (G) com óleo de farelo de arroz rico em gama-orizanol que realizaram treinamento intervalado de moderada intensidade em esteira rolante (T) ou permaneceram sedentários (S) .....	32
<b>Tabela 3 -</b>	Perfil plasmático lipídico de ratos suplementados com óleo de farelo de arroz rico em gama-orizanol que realizaram treinamento intervalado de moderada intensidade em esteira rolante (T) ou permaneceram sedentários (S) .....	34
<b>Tabela 4 -</b>	Quantificação das fibras musculares do gastrocnêmio (unidade arbitrária) analisadas em relação a tipagem de ratos suplementados com óleo de arroz rico em gama orizanol e submetidos a treinamento físico durante seis semanas .....	37
<b>Tabela 5</b>	Área das fibras musculares do gastrocnêmio, divididas pelos tipos e subtipos de fibras, de ratos treinados (T) e sedentários (S) que receberam ou não suplementação com óleo de farelo de arroz rico em GO em duas dosagens 0,3 mL (3) e 0,6 mL (6) .....	38

## ***LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS***

---

---

<b>CT</b>	Colesterol Total Sérico
<b>GABA</b>	Gama Amino Butírico
<b>GO</b>	Gama Orizanol
<b>H<sub>2</sub>O</b>	Hidróxido de Oxigênio
<b>HDL</b>	Lipoproteína de Alta Densidade
<b>HMG-CoA</b>	Hidroxi-3-methyl-glutaril-CoA redutase 3
<b>LABFISE</b>	Laboratório de Fisiologia do Exercício
<b>LDL</b>	Lipoproteína de Baixa Densidade
<b>LH</b>	Hormônio Luteinizante
<b>NaCl</b>	Cloreto de Sódio
<b>NADH- TR</b>	Nicotinamida Adenina Dinucleotideo Tetrazolio Redutose
<b>NBT</b>	Nitroazul de Tetrazolio
<b>OAG</b>	Arroz rico em Gama Orizanol
<b>OFA</b>	Óleo de Farelo de Arroz
<b>SC</b>	Sedentário Controle
<b>SG3</b>	Sedentário Gama Orizanol 3
<b>SG6</b>	Sedentário Gama Orizanol 6
<b>TC</b>	Treinado Controle
<b>TG</b>	Triglicérides
<b>TG3</b>	Treinado Gama Orizanol 3
<b>TG6</b>	Treinado Gama Orizanol 6
<b>TSH</b>	Hormônio Estimulante da Tireoide
<b>UEL</b>	Universidade Estadual de Londrina
<b>UEM</b>	Universidade Estadual de Maringá
<b>VO<sub>2</sub></b>	Volume de Oxigênio

# **SUMÁRIO**

---

---

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	01
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	04
<b>2.1 Objetivo Geral</b> .....	04
<b>2.2 Objetivos Específicos</b> .....	04
<b>3 REVISÃO DA LITERATURA</b> .....	05
<b>3.1 Óleo de farelo de arroz (OFA)</b> .....	05
<b>3.2 Gama-Orizanol e seu Efeito Hipocolesterolêmico</b> .....	08
<b>3.3 Gama-Orizanol e seu Efeito Anabolizante</b> .....	09
<b>3.4 Treinamento Intervalado</b> .....	10
3.4.1 Zona de Treinamento .....	11
<b>3.5 Tecido Adiposo</b> .....	12
3.5.1 Tecido Adiposo Branco .....	13
3.5.2 Tecido Adiposo Marrom .....	14
3.5.3 Tecido Adiposo e Exercício .....	15
<b>3.6 Tecido Muscular</b> .....	17
3.6.1 Fibra Muscular e o Exercício .....	18
<b>3.7 Testosterona</b> .....	19
3.7.1 Efeitos do Exercício sobre o Hormônio Testosterona .....	20
<b>4 MÉTODOS</b> .....	22
<b>4.1 Animais</b> .....	22
<b>4.2 Procedimentos experimentais</b> .....	22
<b>4.3 Administração do Óleo de Farelo de Arroz (OFA)</b> .....	23
<b>4.4 Treinamento Físico</b> .....	23
<b>4.5 Máxima Velocidade em Teste Incremental</b> .....	24
<b>4.6 Parâmetros Corporais</b> .....	25
<b>4.7 Coleta dos Tecidos</b> .....	25
<b>4.8 Análise do Plasma</b> .....	25
<b>4.9 Dosagem do Hormônio Testosterona</b> .....	26
<b>4.10 Análise do Glicogênio</b> .....	26
<b>4.11 Análises Histológicas e Morfológicas Muscular</b> .....	27

<b>4.12 Preparo Histoenzimológico das Fibras Musculares .....</b>	<b>27</b>
<b>4.13 Análise Histoquímica das Fibras Musculares .....</b>	<b>28</b>
<b>4.14 Obtenção das Imagens dos Músculos .....</b>	<b>28</b>
<b>4.15 Identificação dos Tipos de Fibras Musculares .....</b>	<b>29</b>
<b>4.16 Tratamento dos Dados .....</b>	<b>29</b>
<b>5 RESULTADOS .....</b>	<b>31</b>
<b>5.1 Peso Corporal e Adiposidade .....</b>	<b>31</b>
<b>5.2 Perfil Lipídico Plasmático .....</b>	<b>33</b>
<b>5.3 Biomarcadores de Carboidratos .....</b>	<b>34</b>
<b>5.4 Níveis de Testosterona .....</b>	<b>36</b>
<b>5.5 Fibras Musculares .....</b>	<b>36</b>
<b>6 DISCUSSÃO .....</b>	<b>40</b>
<b>7 CONCLUSÃO .....</b>	<b>47</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>48</b>
<b>ANEXOS .....</b>	<b>65</b>
<b>Anexo A: Parecer do Comitê de Ética .....</b>	<b>66</b>
<b>Anexo B: Protocolo de Treinamento em Esteira – Moderada Intensidade ....</b>	<b>67</b>

# 1 INTRODUÇÃO

A utilização e as opções de recursos ergogênicos existentes no mercado para aumentar o desempenho em praticantes de esportes de alta intensidade vêm crescendo, paralelo ou não as comprovações científicas. Dentre essas opções, encontra-se em expansão o uso do óleo de farelo de arroz (OFA), rico em gama-orizanol (JULIANO et al., 2005).

O farelo de arroz obtido durante o processamento do grão de arroz tem alcançado importância comercial no mundo todo devido aos muitos benefícios nutritivos e efeitos biológicos. O FA é uma fonte rica em fitocêuticos importantes como o orizanol, lecitina, tocoférois, vitamina E, ácido ferúlico, ácido fítico e inositol (PATEL; NAIK, 2004). Contudo, a maioria desses fitocêuticos são removidos do OFA durante o processo de refino do óleo (KIM et al., 1999). O gama-orizanol é o único componente que tem potencial para ser usado em preparações nutracêuticas, farmacêuticas e cosmecêuticas (SILVA et al., 2001).

O gama-orizanol (GO) é um composto antioxidante e está associado com a redução de colesterol sérico (GERHARDT; GALLO, 1998), redução da agregação plaquetária (SEETHARAMAIAH et al., 1990), influencia o eixo hipotálamo-hipófise, reduzindo os níveis séricos do hormônio estimulante da tireóide (TSH) no hipotireodismo (SHIMONURA et al., 1980) e inibindo a secreção do hormônio luteinizante (LH) (ISHIHARA et al., 1982), e, recentemente, aumentar os níveis de adiponectina (NAGASAKA et al., 2011). Este produto tem sido usado para tratar hiperlipidemias (SAKAMOTO et al.; 1987; RONG et al., 1997; SUGANO; TSUJI, 1997; CHOU et al., 2009), distúrbios da menopausa (MURASE; ISHIMA, 1963; YAMAGUSHI et al., 1981; ISHIHARA et al., 1982) e, atualmente, na melhora da resistência insulínica (CHOU et al., 2009; OHARA et al., 2009; NAGASAKA et al., 2011).

No Brasil o uso de OFA tem sido intensificado nos animais de grande porte voltados a *performance* atlética competitiva. Tanto que estes suplementos recebem até mesmo a denominação da espécie na sua comercialização, como exemplo Gama-Horse®. As principais são provas de tambor



e turfe equestre. A prova de tambor consiste em contornar 3 tambores distribuídos em forma triangular, no menor tempo possível. A média de tempo da prova dos tambores é de 18 segundos, tanto para homens quanto para mulheres (BERTOLAZZI, 2007). O turfe equestre é o nome do esporte britânico que promove e incentiva corridas de cavalos em locais denominados hipódromos. A pista pode ser em volta fechada (com curvas e retas), ou em traçado reto (canha reta), onde o cavalo pode atingir uma velocidade acima de 60 quilômetros por hora (STEWART, 1995).

Por outro lado, existe entre os usuários humanos de suplementos ergogênicos uma grande tendência de adoção destes produtos, que normalmente está associada aos praticantes de exercício de força, potência e velocidade. Porém, a ingestão de produtos que possam levar ao ganho de desempenho é realizada na maioria das vezes sem critério científico.

Estudos investigam se o OFA e seus principais fitocêuticos podem melhorar a massa muscular. Bonner e colaboradores (1990) observaram aumento de massa muscular decorrente da suplementação de ácido ferúlico após exercício. Fry et al. (1997) observou aumento da massa muscular, aumento da resistência física, melhora da recuperação após o exercício e redução da gordura corporal em humanos quando comparado aos controles. Mais recentemente no Brasil, Gobesso et al. (2007) utilizando óleo de arroz rico em gama-orizanol na dieta de cavalos obteve aumento no ganho de peso e melhora significativa do escore corporal, sugerindo possível ação ergogênica da partícula de GO, em provas de tambor, onde o trabalho muscular é de alta intensidade.

O uso do OFA rico em GO estaria ligado a um possível efeito anabólico. Com alguns autores associando este efeito ao aumento dos níveis de testosterona, que é um dos principais esteróides anabólicos androgênicos, que comprovadamente aumenta a massa muscular e melhora o desempenho físico (MORIKAWA, 2007). Entretanto outros autores não encontrando aumento nas concentrações plasmáticas de testosterona, demonstrando que o GO não teve efeito anabolizante (GONZAGA, et al.; 2006).

A maioria dos estudos que envolvem OFA relaciona seu papel no metabolismo lipídico, modificando o perfil de gorduras no plasma de animais e humanos (LICHTENSTEIN et al., 1994; SUGANO et al., 1997; CHOU et al., 2009).

Embora existam muitos estudos que apontem para os benefícios do óleo de arroz em diferentes situações fisiológicas, são poucas as pesquisas que relacionam o uso desta substância ao treinamento físico.

Produtos com efeitos ergogênicos surgem a todo momento num mercado que comercializa milhões de dólares em todo o mundo, mas são poucos aqueles que cientificamente têm seu efeito positivo comprovado. Para uma grande maioria não são atribuídos os efeitos esperados, sendo que para outra parcela significativa são apontados efeitos contrários ou colaterais que desqualificam o uso da substância.

Os estudos acerca do óleo de farelo de arroz sob condições de exercício físico são escassos, e com treinamento intervalado moderado raros. Desta forma, este trabalho pretende contribuir para um entendimento sobre os efeitos do treinamento físico e da suplementação do óleo de farelo de arroz na composição corporal e no metabolismo das gorduras.

# **2 OBJETIVOS**

## **2.1 Objetivo Geral**

Analisar as alterações morfofisiológicas em ratos suplementados com óleo de farelo de arroz rico em gama-orizanol e submetidos a um programa de treinamento físico intervalado em esteira rolante.

## **2.2 Objetivos Específicos**

- ✓ Avaliar a influência da suplementação de óleo de farelo de arroz em diferentes concentrações na evolução do peso corporal e adiposidade de ratos sedentários e treinados.
- ✓ Caracterizar o perfil lipídico, através de dosagens plasmáticas de colesterol total, das frações de colesterol (HDL e LDL) e triglicerídeos, nos diferentes grupos experimentais.
- ✓ Quantificar o teor de glicose circulante e glicogênio muscular como biomarcadores de carboidratos.
- ✓ Verificar os níveis de testosterona decorrentes da suplementação do OFA e do treinamento físico;
- ✓ Analisar alterações nas fibras musculares através da tipagem muscular e das áreas celulares.

## **3 REVISÃO DA LITERATURA**

### **3.1 Óleo de farelo de arroz (OFA)**

O arroz (*Oryza Sativa L.*) é um cereal que ocupa posição de destaque no mercado mundial, sendo o segundo mais consumido por todos os povos, superado em produção apenas pelo trigo. Como subproduto do beneficiamento do pericarpo desse tão popular grão, há o farelo, que representa de 8% a 11% do peso total do grão (PESTANA et al., 2008). A partir desse farelo de arroz, desengordurado ou não, pode-se encontrar teores variáveis de amido, tendo porção mais representativa de vitaminas, proteínas, minerais, fibras e óleo. O óleo de arroz constitui-se em cerca de 20% do farelo. Seus maiores constituintes são os ácidos oléico e linoléico, e ésteres do ácido palmítico.

O óleo de farelo de arroz, quando comparado com outros óleos evidencia algumas vantagens. Contém importantes micronutrientes, é muito resistente à oxidação durante a cocção, seu gosto mais neutro o torna ótimo para saladas e suas propriedades nutricionais o fazem disputar espaço com os óleos de gergelim e oliva. Como desvantagem tem-se o maior custo em relação a outros óleos devido maior complexidade no processo de seu refino, fato responsável por sua menor produção em alguns países (RODRIGUES et al., 2006).

O óleo de farelo de arroz é obtido a partir do beneficiamento do pericarpo das sementes de arroz (*Oryza sativa*). É de cor amarelo pálido, límpido (a 20°C), inodoro, com densidade variando entre 0,920 e 0,930, acidez em torno de 0,50, sabor agradável, levemente adocicado (CICERO, GADDI, 2001) e ponto de fusão entre 135°C - 137°C (SCAVARIELLO, ARELLANO, 1998). O óleo obtido do farelo de arroz contém altos níveis de tocoferóis, tocotrienos e fitosteróis (SUGANO, TSUJI, 1997), estes componentes atuam como antioxidantes naturais, dando ao óleo uma maior resistência à oxidação e deterioração (SCAVARIELLO, ARELLANO, 1998). É uma rica fonte natural de vitamina E, contendo mais de 300 mg/Kg. Os maiores componentes da vitamina E no óleo de farelo de arroz são  $\alpha$ -tocoferol,  $\alpha$ -tocotrienol,  $\gamma$ -tocoferol e  $\gamma$ -tocotrienol (ZHIMIN et al. 2001), que representam cerca de 1.000 mg/kg de óleo (PESTANA et al., 2008).

O óleo do farelo de arroz apresenta também, abundância de gama-orizanol (cerca de 3.000 mg/kg de óleo), o que lhe confere alto valor comercial (GONG-YUANSSHENG e YAO-HUIYUAN, 2001; XU et al., 2001) e devido à suas ações benéficas a saúde recebe maior atenção dos pesquisadores (GONZAGA, et al., 2006). O teor de gama-orizanol difere de acordo com a fonte do óleo de farelo de arroz, variando de 115 a 780 ppm, dependendo do grau e método de processamento (ROGERS et al. 1993).

O gama-orizanol foi descoberto no óleo de farelo de arroz em 1954 por Kaneko e Tsuchiya, no Japão. Foi inicialmente descrito como um único componente, mas estudos subsequentes revelaram que ele não é uma substância simples, e sim uma variedade de estéril ferulatos denominados de alfa, beta e gama-orizanol (SCAVARIELLO, ARELLANO, 1998). Destes, o gama-orizanol tem sido o mais estudado devido às suas propriedades benéficas à saúde, tais como redução do colesterol plasmático, inibição da agregação plaquetária, redução na biossíntese do colesterol hepático, redução da absorção do colesterol e aumento da excreção fecal de ácidos biliares, além de ser utilizado na indústria farmacêutica de cosméticos e como aditivo em alimentos, devido às suas propriedades antioxidativas (JULIANO et al., 2005).

Entre as múltiplas ações desse composto mencionam-se os efeitos no crescimento, combate a doenças cefálicas e cervicais, minimização dos sintomas da menopausa, combate à anemia, tratamento de úlceras do estresse e como coadjuvante no tratamento de doenças circulatórias. As propriedades do gama-orizanol justificam seu amplo uso, seja como medicamento, na composição de cosméticos, como agente antienvhecimento da pele e até como filtro solar (XU et al., 2001; AMATO, 2006; WILSON et al., 2007). O gama Orizanol em sua fração mais rica mostrou atividades antioxidantes na regulação de antioxidantes e marcadores de genes oxidativos do estresse (ISMAIL et al., 2010). Segundo Bernardi (2011), o óleo de arroz apresenta alta atividade antioxidante e possui um dos constituintes do gama-orizanol em sua fração insaponificável, o que pode enriquecer as propriedades da formulação de creme hidratantes para peles acometidas com dermatites atópicas e psoríase ou pele saudáveis, por promover alta hidratação da pele.

Esse fitosterol apresenta efeito semelhante aos hormônios (esteróides) quando usado na alimentação de cavalos de corrida em que seu

emprego é seguro e legalmente permitido (XU et al., 2001; AMATO, 2006; WILSON et al., 2007).

Devido aos altos níveis de tocoferóis, tocotrienos e fitosteróis, o gama-orizanol atua como antioxidante natural, dando ao óleo uma maior resistência à oxidação e deterioração. Muitos outros óleos vegetais contêm níveis variados de substâncias antioxidantes, mas apenas no óleo de farelo de arroz pode-se encontrar o gama-orizanol (SCAVARIELLO, ARELLANO, 1998). Manosroi et al. (2011), demonstraram a atividade antioxidante e melhora da hidratação da pele pelos compostos bioativos do farelo de arroz, quando incorporados em formulações de creme.

O gama-orizanol consiste numa complexa mistura de ésteres do ácido ferúlico com alcóois triterpenos e esteróis. Mais de 23 ésteres dos ácidos ferúlico e caféico já foram identificados no gama-orizanol, sendo os principais componentes (mais de 80% da fração do gama-orizanol) o 24-metileno cicloartenil ferulato, cicloartenilferulato ou cicloartenol, gama-sistoterilferulato e campesterilferulato ou campesterol (KIM et al., 2001; FANG et al., 2003). De acordo com Bucci (1989) o efeito anabolizante do ácido ferúlico vem desse composto ser rico em esteróides de plantas. O ácido ferúlico é um precursor, componente ativo e purificado das duas partes que formam a molécula do gama-orizanol, sendo relatado como precursor de muitos componentes de plantas, incluindo lignina estrutural e flavonóides.

O alto valor energético do farelo de arroz deve-se, em parte, ao seu elevado teor de lipídeos (SILVA et al., 2001). O óleo do farelo de arroz é constituído por cerca de 68 a 71% de triacilgliceróis, 2 a 3% de digliceróis, 5 a 6% de monogliceróis e 2 a 3% de ácidos graxos livres. Ainda, apresenta frações variáveis de glicolipídios (5 a 7%), fosfolipídios (3 a 4%), ceras (2 a 3%) e lipídeos insaponificáveis (aproximadamente 4%) (McCASKILL, ZHANG, 1999).

O conteúdo total dos ácidos graxos corresponde a cerca de 18% de ácidos graxos saturados, 45% de ácidos graxos monoinsaturados e 37% de ácidos graxos poliinsaturados. Os principais ácidos graxos saturados são os ácidos palmítico (14-17%) e esteárico (2,0-2,5%) e os principais insaturados são os ácidos: oléico (40-45%), linoléico (35-37%) e linolênico (1-2%) (ZAMBIAZI, 1997).

### 3.2 Gama-Orizanol e seu Efeito Hipocolesterolêmico

Uma das propriedades mais importantes do gama-orizanol é sua capacidade redutora de colesterol. Existem muitos estudos em humanos e animais (SHARMA; RUKMINI, 1986; RUKIMINI, RAGHURAM, 1991; NICOLOSI et al.; 1991) mostrando que o OFA tem a propriedade de reduzir as lipoproteínas de baixa densidade (LDL) e o colesterol total sérico (CT) e aumentar as lipoproteínas de alta densidade (HDL) devido à capacidade de influenciar a absorção dietética de colesterol ou aumentar sua excreção através da conversão de colesterol em ácidos biliares e esteróis fecais (PATEL; NAIK, 2004).

O óleo de arroz e seus principais componentes têm demonstrado capacidade de reduzir o colesterol plasmático e as concentrações de triglicerídeos de roedores, coelhos, primatas e humanos (CÍCERO; GADDI, 2001).

Em animais alimentados com dieta hiperlipídica a diminuição nos níveis de colesterol plasmático também provocou redução na formação de placas de gordura na aorta (RANG et al., 2007). Também em modelos animais diabéticos (CHOU et al., 2009) a administração do OFA melhorou as anormalidades lipídicas e reduziu o índice aterogênico. O estudo de Cheng (2010), mostrou um aumento acentuado de LDL e TG, e o GO tendeu a aumentar a sensibilidade a insulina em ratos com diabetes tipo 2.

Um experimento conduzido em humanos testou a propriedade hipocolesterolêmica do OFA (MORYAMA et al., 2002). No estudo 66 pessoas foram alimentadas por 30 dias com arroz feito com extrato que continha principalmente inositol, gama amino butírico (GABA) e gama-orizanol. Os níveis séricos lipídicos (CT, LDL e beta lipoproteína) foram significativamente reduzidos, principalmente nas pessoas que tinham os níveis de colesterol total acima de 200 mg/dL antes do estudo.

Num estudo com ratos, investigou-se a influencia do colesterol sanguineo em ratos, e conclui-se que a hipercolesterolemia e a elevação do LDL melhoraram com dietas a base de arroz rico em GO, além do efeito cardio protetor sobre esses ratos hipercolesterolêmicos (ROOHINEJAD et al., 2010).

Pesquisas têm demonstrado que sua capacidade para inibir a oxidação lipídica depende de sua concentração (GERTZ et al., 2000; HUANG et al.,

2002; JULIANO et al., 2005; NYSTRÖM et al., 2005). Sua absorção intestinal pode ser melhorada por emulsificação ou pela adição de detergentes não-iônicos.

### 3.3. Gama-Orizanol e seu Efeito Anabolizante

Em relação ao uso do gama-orizanol como suplemento anabólico, há publicações que sugerem uma variação plasmática de testosterona nos seus usuários (IERI et al., 1982). O óleo de arroz tem em média 1,6% de um fator considerado por alguns pesquisadores como estimulador do crescimento e do percentual de massa muscular magra que é o gama-orizanol (SUGANO et al., 1999).

Alguns dos efeitos do complexo gama-orizanol são crescimento com aumento da massa muscular magra, aumento da resistência física, melhora a recuperação após exercício e redução na gordura corporal, constituindo uma alternativa natural aos esteróides anabólicos. Essas conclusões são citadas por Fry et al. (1997) que realizaram estudos conduzidos com humanos, utilizando-se níveis de 500 mg/dia de gama-orizanol durante um período de até 9 semanas comparativamente a um grupo controle sem gama-orizanol. Não foram constatados efeitos na circulação de hormônios (testosterona, cortisol ou estradiol, insulina), dos minerais (cálcio e magnésio), da albumina e das lipoproteínas (colesterol total, triglicerídios, e HDL). De acordo com Bruni (1988) um aumento de norepinefrina e beta endorfina tem sido sugerido como efeito da ingestão de gama-orizanol. Desta maneira, um aumento nos níveis de norepinefrina poderia potencialmente influenciar muitos sistemas fisiológicos. Portanto, alterações no sistema endócrino sugerem causar aumento na *performance* como propriedade do gama-orizanol. Ainda de acordo com este autor, tem sido proposto que doses de gama-orizanol menores que 25mg/dia promovem mudanças positivas na força muscular e na composição corporal em humanos.

Há sugestões de que a suplementação de gama-orizanol pode aumentar a massa corporal, enquanto diminui o peso da gordura. Estudos feitos em animais com a utilização do gama-orizanol não revelaram quaisquer efeitos secundários mesmo com doses acima de 1.000 mg/dia (BUCL, 1989). Por outro lado, segundo ÁVILA (2007), o gama-orizanol é uma substância com propriedades



anabolizantes que aumenta a massa muscular e os antioxidantes protegem as células durante o esforço físico.

Um estudo realizado no Brasil, utilizando óleo de arroz rico em gama-orizanol na dieta de garanhões obteve aumento no ganho de peso e melhora significativa do escore corporal, sugerindo possível ação ergogênica da partícula de gama-orizanol (GOBESSO et al., 2007). Neste estudo, também foi observado, aumento da concentração plasmática de testosterona durante o tratamento e acentuada queda após término da suplementação.

### **3.4. Treinamento Intervalado**

O treinamento intervalado (TI) é um método de treinamento onde o exercício é efetuado de forma intermitente, com períodos de exercício intercalados por períodos de recuperação. Na organização do TI deve-se considerar: a intensidade do exercício; a distância a ser percorrida; o número de repetições e de séries; o tempo de recuperação entre as repetições e entre as séries; a forma de recuperação no intervalo, ativa ou passiva (SANTOS, 2004).

O treinamento intervalado permite várias combinações, devido às suas características, e é subdividido em duas categorias, com diferentes classificações. Para Volkov (2002), é classificado de acordo com a intensidade do estímulo em extensivo e intensivo, e também de acordo com o volume em curto, médio e longo. Pode ser utilizado o termo treinamento intervalado intensivo (TII), onde predomina a intensidade, e treinamento intervalado extensivo (TIE), onde predomina o volume (SCHMOLINSKY, 1982). Billat (2001) divide o TI em aeróbio e anaeróbio, com o aeróbio de curta duração compreendendo exercícios entre 15 e 60s com 15s a 4min de recuperação, enquanto que TI de longa duração utiliza 1-8 min de duração e 1-3 min de recuperação.

O treinamento intervalado tem demonstrado eficiência na redução de gordura corporal. Donnelly et al. (2000), em um estudo com mulher sedentárias moderadamente obesas, relataram resultados favoráveis à prevenção do ganho de peso e à melhora de alguns parâmetros da aptidão aeróbia, tanto com o exercício contínuo quanto com o intermitente. De modo similar, em estudo com ratos que se submeteram a natação, Santos e Mello (2002) não encontraram diferença na

adiposidade corporal de ratos quando compararam um protocolo contínuo, com intensidade de 5% massa corporal e duração de 60min/dia, com um protocolo intervalado, 7,5% massa corporal, 4min de exercício/1min:30s de recuperação, ambos com duração de oito semanas. Gauthier et al. (2003), concluíram em seu estudo com ratos treinados em esteira durante 8 semanas e submetidos a uma dieta hiperlipídica que o exercício regular diminui a gordura visceral.

Segundo Eder (2009), poucos estudos envolvem treinamento com exercícios intermitentes e interferências no metabolismo lipídico, e os poucos estudos com exercícios de alta intensidade descrevem os efeitos de uma sessão simples, o que torna pouco explorado o conhecimento sobre os exercícios intermitentes de alta intensidade e sua relação com o metabolismo lipídico. Jacobs et al. (2006), realizaram um estudo com jovens saudáveis e exercícios, e demonstraram em seus resultados finais maior concentração de HDL-C e menor de LDL-C no final do treinamento quando comparado a antes do treinamento. E em um estudo com jovens não obesos, Tsekouras et al. (2008), concluiu que o exercício intervalado aeróbio reduziu a concentração de VLDL. Em seu estudo Eder (2009), concluiu que o grupo que realizou exercícios intermitentes obtiveram um aumento na secreção de VLDL-TAG pós exercício.

#### 3.4.1 Zona de Treinamento

A determinação da zona de transição metabólica na qual há o início da passagem de predominância aeróbia para anaeróbia, caracterizada por um aumento de contribuição fosfagênica e glicolítica para o fornecimento de energia ao exercício, apresenta extrema importância para avaliação física, condicionamento físico e esportes de rendimento, acarretando em uma correta prescrição de atividade física de acordo com o objetivo determinado. Como consequência, um grande número de investigações resultou em diferentes protocolos para identificação dessa zona metabólica inicial de transição em humanos (WASSERMAN e MCILOROY, 1964; MONOD e SCHERRER, 1965; KINDERMAN et al., 1979; SJÖDIN e JACOBS, 1981; HECK et al., 1985; CHASSAIN, 1986 e TEGTBUR et al., 1993).

Na atualidade, o método padrão ouro para a determinação da intensidade de transição entre aeróbio e anaeróbio em exercício contínuo executado

por humanos é a máxima fase estável de lactato (MFEL), definida como a mais alta intensidade na qual o metabolismo aeróbio ainda prepondera sobre o anaeróbio (BENEKE, 1995; BENEKE, 2003, BILLAT et al., 2003).

No estudo de Gobatto et al.(2008), onde foram apresentados protocolos de avaliação física e sua aplicação à roedores nadadores e corredores, conclui-se que os ratos corredores apresentaram MFEL em 20 m/min, com o metabólito permanecendo estável em  $3,9 \pm 0,3$  mmol/L.

### **3.5. Tecido Adiposo**

As espécies animais precisam garantir a sobrevivência sob condições inóspitas ou desfavoráveis. Vertebrados em geral e mamíferos em particular, por possuírem tecido adiposo (TA), conseguem armazenar o excesso de calorías como lipídeos (triacilgliceróis – TAG) (TAKADA; LIMA, 2006).

O tecido adiposo é uma variedade especial de tecido conjuntivo no qual se encontra o predomínio de adipócitos, um tipo de célula que acumula gotículas de lipídios em seu citoplasma (JUNQUEIRA, CARNEIRO, 2008). Além dos adipócitos, o tecido adiposo contém uma matriz de tecido conjuntivo (fibras colágenas e reticulares), tecido nervoso, células do estroma vascular, nódulos linfáticos, células imunes (leucócitos, macrófagos), fibroblastos e pré-adipócitos (células adiposas indiferenciadas) (AHIMA; FLIER, 2000).

O tecido adiposo (TA) possui múltiplos depósitos, ou seja, é difuso dentro do organismo e, por isso, não possui forma definida. Embora seja constituído por diversos espécimes celulares o seu elemento parenquimal mais importante é o adipócito (CINTI, 2005).

O tecido adiposo é um órgão com várias funções: isolamento térmico, barreira física à traumas, armazenamento energético e secreção de proteínas (ZHANG et al., 1994). Como órgão secretor, apresenta várias particularidades. Encontra-se disperso pelo organismo, em depósitos sem ligação física entre si, cuja atividade secretória é regulada por mecanismos humorais e hormonais, não totalmente esclarecidos. Nesses depósitos individuais, encontram-se vários tipos celulares (macrófagos, fibroblastos, pré-adipócitos e adipócitos) com atividade secretória variável (COSTA; DUARTE, 2006).

O tecido adiposo pode ser classificado de acordo com o número de vacúolos de gordura presentes em cada célula, cada uma das variedades possui fisiologia, distribuição no corpo, estrutura e patologia diferenciadas (ENERBÄCK, 2009).

Nos mamíferos, existem dois tipos de tecido adiposo: o branco (TAB) também chamado de unilocular, e o marrom (TAM) ou multilocular. O adipócito branco maduro armazena os triacilglicerol (TAG) em uma única e grande gota lipídica que ocupa de 85-90% do citoplasma e empurra o núcleo e uma fina camada de citosol para a periferia da célula (POND, 2001). O adipócito marrom é uma célula caracterizada pela presença de várias gotículas lipídicas citoplasmáticas de diferentes tamanhos, citoplasma relativamente abundante e núcleo esférico e ligeiramente excêntrico. Apresenta um grande número de mitocôndrias que, por não possuírem o complexo enzimático necessário para a síntese de ATP, utilizam a energia liberada pela oxidação de metabólitos, principalmente ácidos graxos, para gerar calor. O adipócito marrom pode atingir 60 µm de diâmetro, sendo, geralmente, muito menor que o adipócito branco que tem um tamanho médio de 90–100 µm. (CANNON; NEDERGAARD, 2004). Embora os adipócitos branco e marrom sejam diferentes visualmente e tenham funções fisiológicas distintas, é considerado que eles derivem de uma célula precursora comum (CRISAN et al., 2008).

O tecido adiposo marrom (TAM) é especializado na produção de calor (termogênese) e, portanto, participa ativamente na regulação da temperatura corporal. Então, enquanto as células adiposas brancas são especializadas em estocar energia química na forma de TAG, as células adiposas marrom dissipam a energia na forma de calor (CANNON; NEDERGAARD, 2004).

### 3.5.1 Tecido Adiposo Branco

As células adiposas brancas são o maior depósito de estocagem de energia em mamíferos. Quando a fonte de nutrientes é escassa, a quebra dos triglicerídeos do tecido adiposo branco (TAB) gera ácidos graxos que são exportados para outros tecidos, incluindo os músculos. Na obesidade, quando a energia estocada excede o gasto calórico, tanto o tamanho como o número de adipócitos aumenta (MINER, 2004).

O TAB se distribui em diversos depósitos no organismo, anatomicamente classificados como tecido adiposo subcutâneo (TAS) e tecido adiposo visceral (TAV). O TAS é principalmente representado pelos depósitos abaixo da pele nas regiões abdominal, glútea e femoral. O TAV refere-se ao tecido depositado próximo ou mesmo no interior das vísceras da cavidade abdominal, sendo bem exemplificado pelas gorduras mesentérica, periepididimal e retroperitoneal. Há um dimorfismo sexual na distribuição regional do TAB, com as mulheres usualmente tendo maior grau de adiposidade do que os homens e apresentando maior razão TAS/TAV do que esses (ROSENBAUM et al., 2001). O volume dos adipócitos do tecido visceral mostram-se maiores comparativamente ao tecido subcutâneo (DICKER, et al., 2004).

Além das diferenças quanto à localização anatômica, também a funcionalidade e o metabolismo do TAV e do TAS variam de região para região, apresentando certa especificidade e, possivelmente, especialização (WAJCHENBERG et al., 2001; LAFONTAN, BERLAN, 2003). O TAV é metabolicamente mais ativo, possui maior sensibilidade à ação lipolítica, maior resistência à ação da insulina, além de secretar maiores quantidades de adipocinas e ácidos graxos livres quando comparado ao tecido subcutâneo (TCHERNOF et al., 2006; FAN; FARELL, 2008).

O conceito de que excesso de adiposidade está associado a complicações metabólicas e hemodinâmicas que levam frequentemente ao desenvolvimento de resistência à insulina e de doenças cardiovasculares não é recente. A adiposidade abdominal, em particular, adiposidade visceral está intimamente ligada ao desenvolvimento de resistência à insulina, hipertensão e dislipidemias (GIORGINO et al., 2005), e parece ser o elo entre obesidade e síndrome metabólica (MITSUISHI et al., 2009).

### 3.5.2 Tecido Adiposo Marrom

O tecido adiposo marrom (TAM) ou castanho é um dos dois tipos de tecido adiposo existente em mamíferos. Os adipócitos marrons contêm numerosas pequenas partículas e uma quantidade muito maior de mitocôndrias, que contêm ferro tornando-as marrom (ENERBÄCK, 2009). É especialmente abundante em

recém-nascidos e em mamíferos hibernantes (GESTA et al., 2007). Até pouco tempo tinha importância metabólica somente em alguns mamíferos e bebês humanos, sendo responsável pela regulação da temperatura corporal, mas este tecido em humanos era rapidamente perdido no pós-natal até os primeiros três anos de vida. Recentes estudos mostrando tomografia computadorizada de escaneamento, sugerem em adultos humanos algumas áreas discretas de TAM metabolicamente ativos (CANNON; NEDERGAARD et al, 2004).

Os adipócitos marrons são encontrados em aglomerados sempre envoltos pelo tecido adiposo branco, em graus variáveis entre espécies e até mesmo entre linhagens da mesma espécie. Está localizado nos núcleos interescapular, subescapular, intercostal, periaórtico, perirrenal, além de encontrar em regiões axilares, cervicais, dorsais e ventrais (FONSECA-ALANAIZ et al., 2006). Nos roedores, o TAM totaliza até 3% do peso corporal e a região interescapular corresponde a 25% do TAM total (CANNON; NEDERGAARD, 2004).

A sua principal função é a produção de calor que em pequenos roedores, é independente de tremor muscular e da termogênese facultativa induzida pela dieta (RICQUIER et al., 1990). O TAM frente a uma sobrecarga calórica é capaz de aumentar o gasto energético e prevenir o desenvolvimento da obesidade. Quando ocorre uma redução na ingestão calórica, ele pode agir diminuindo o gasto energético (ROTHWELL, STOCK, 1979; STOCK, 1999).

### 3.5.3 Tecido Adiposo e Exercício

O exercício físico promove oxidação de gorduras. As variáveis volume e intensidade são as grandes discussões atuais em relação ao aumento da oxidação de gordura (VENABLES et al., 2005).

Embora a utilização do treinamento contínuo, de caráter aeróbio seja mais difundida, o treinamento intervalado, segundo alguns autores, também pode ser útil em programas de redução ponderal, uma vez que parece induzir maiores adaptações metabólicas e ser facilmente sustentado por tempos prolongados com elevada intensidade de esforço (HUNTER, et al., 1998). Num contexto geral, o exercício intervalado tem recebido crescente atenção na literatura científica e também parece estender alguns benefícios em adiposidade (MICHAEL et al., 1976;

NORRBON et al., 2004; GURD; PERRY, 2010). O treino de alta intensidade está bastante visado devido suas adaptações similares e até superiores em relação ao treino de baixa ou moderada intensidade (CHRISTOPHER et al., 2008; BURGOMASTER et al., 2008; GIBALA et al., 2009).

O treinamento intermitente talvez favoreça maior gasto energético pós-exercício por manter a taxa metabólica de repouso em níveis elevados por um longo período. Nesse período, a gordura proveniente do tecido adiposo constitui o principal substrato consumido pelo organismo, reduzindo assim o conteúdo lipídico corporal (SJODIN et al., 1996).

O treinamento intervalado de alta intensidade pode ser utilizado como estratégia para aumentar a atividade das vias metabólicas glicolíticas e oxidativas. Em alguns casos, os resultados são similares ao treinamento aeróbio contínuo, porém com a diferença de possuir uma maior expressão e conteúdo protéico das enzimas AMPK, PGC1-alfa e do NRF 1 e 2 (Fator Nuclear Respiratório, que é um mediador transcricional do PGC1-alfa responsável pela biogênese mitocondrial), o qual se associa com maior oxidação lipídica (BURGOMASTER et al., 2008; GIBALA, 2009).

Além disto, o treinamento intervalado parece elevar a utilização da glicose circulante através do aumento no número de receptores GLUT4 e menor uso de glicogênio muscular (armazenado). Isto indicaria a ocorrência do “*sparing effect*”, onde há menor uso de glicogênio e maior oxidação de gordura (CHRISTOPHER et al., 2008).

O início do exercício também está associado à ativação de lipólise no tecido adiposo e a liberação de ácidos graxos livres e glicerol na circulação, sendo que as concentrações de ácidos livres elevam-se e são captados e utilizados pelos músculos em exercício (AHLBORG et al., 1974).

À medida que ocorre a depleção dos estoques de glicogênio muscular, a atividade da enzima lípase de lipoproteínas (LPL), localizada no endotélio capilar muscular, aumenta, elevando assim, em cerca de 50% a captação dos triglicerídeos plasmáticos por este tecido (LITHEL et al., 1984).

Sendo assim, como o exercício provoca adaptações em diferentes níveis (teciduais, celulares e moleculares), o mesmo pode contribuir nas estratégias de redução da gordura corporal, ou seja, o emagrecimento, que leva ao bem estar físico psíquico e social (DA SILVA, et al., 2010).

### 3.6 Tecido Muscular

Qualquer movimento humano, dos menores e mais simples como piscar de olhos, aos mais complexos e vigorosos como corrida ou levantamento de peso, é gerado pela ação muscular. O músculo é o único tecido do corpo humano capaz de produzir força e, biomecânicamente, a única estrutura ativa do corpo (HALL, 2000).

Os músculos são compostos de diversas células musculares ou sarcomêros que também são chamadas de fibras musculares, cujo diâmetro varia de 10 a 80 micrometros (GUYTON, 2002). As fibras musculares são organizadas em feixes, que são chamados de fascículo. Os miofilamentos compreendem as miofibrilas que consiste em milhares de fibrilas (WEISS; ORON; 1992).

Os músculos esqueléticos possuem dois principais tipos de fibras musculares: as fibras de contração lenta do tipo I, e as fibras de contração rápida do tipo II. Há ainda subdivisões para as fibras de contração rápidas: fibras rápidas do tipo: IIa, IIax, IIx, IIb, IIc. As fibras de contração lenta ou rápida são assim denominadas pela diferença em sua velocidade de contração (WILMORE; COSTILL, 2001; POLLA et al., 2004; BELTMAN et al., 2004). Putman et al. (2004), ainda cita fibras com fenótipos híbridos; isto é, fibras híbridas do tipo I/IIa, tipo I/IIb(x) e do tipo IIa/IIb(x).

A composição de fibras musculares é a distribuição da porcentagem de diferentes tipos dentro do músculo. A composição de fibras musculares varia tanto entre os músculos de um indivíduo como também de um indivíduo para o outro (GERDLE et al., 2000; LARSSON et al., 2001; PEDERSEN et al., 2002; CARROLL et al., 2004).

Na maioria dos músculos a composição média de fibras musculares é  $\pm 49\%$  de fibras do tipo I,  $\pm 24\%$  de fibras rápidas do tipo IIa e os outros  $\pm 24\%$  é composto basicamente de fibras rápidas do tipo IIb, com 1 a 3% para outras subdivisões de tipos de fibras musculares. O músculo solear (localizado embaixo do gastrocnêmio) é composto basicamente de fibras lentas em todas as pessoas (WILMORE; COSTIL, 2001).

Os tipos de fibras musculares e sua composição envolvem diversas atividades do ser humano e seu estado de saúde como: Produção hormonal (BAHI et al., 2005), idade e crescimento (DESCHENES, 2004; HUSOM et al., 2005;



CANEPARI et al., 2005), arquitetura muscular (BLEMKER; DELP, 2005; LINDSTEDT et al., 1998; LINDSTEDT; KAMEN, 2005; BACH et al., 2004) e doenças relacionadas a estrutura e função muscular (KARAKELIDES; SREEKUMARAN, 2005; KRIVICKAS et al., 2000; CARROLL et al., 2005; RAO et al., 2005, LAING et al., 2004).

Diversos estudos relatam os diferentes tipos de fibra e sua interferência no desempenho aeróbico (GARLAND et al., 2004; ZAWADOWSKA et al., 2004), anaeróbico (WIDRICK et al., 1996; KOMI et al., 1997; BARSTOW et al., 1996) e em ambos (INBAR et al., 1981; HARBER et al., 2004; PUTMAN et al., 2004), nas alterações musculares de ordem morfológicas (PRINCE et al., 1981; BLEMKER; DELP, 2005; LINDSTEDT et al., 1998; KNIGHT; KAMEN, 2005; FRIEDMANN et al., 2004; FRY, 2004) e fisiológicas (HANSEN et al., 2005). Não obstante, pesquisas baseadas no ganho ou perda de massa corporal (MICHEL et al., 2004; MUTUNGI; RANATUNGA, 2000; THOMSON; GORDON, 2005) e crescimento e desenvolvimento (VAN PRAAGH; DORE, 2002; KELLER et al., 2000).

### 3.6.1 Fibra Muscular e o Exercício

A análise da função muscular, mais especificamente no que se refere à atividade de suas diferentes fibras, não pode ser dissociada da análise da atividade física para qual o indivíduo está executando ou predisposto a executar. Isto porque a atividade muscular está intimamente ligada ao tipo de atividade, bem como ao desenvolvimento da mesma; por outro lado a atividade física tem influência direta tanto na morfologia como na função destas fibras.

A composição da fibra é um fator que contribui para habilidade de executar tanto exercício de curta duração bem como de resistência (INBAR et al., 1981). Além disso, o conhecimento das características de respostas das fibras musculares ao exercício e de pré-disposição esportiva tem importância crucial na categorização esportiva, conveniente para cada tipo de predominância de fibras (GOSWAMI et al., 2001; ZAWADOWSKA et al., 2004), bem como atingir objetivos estéticos de um indivíduo na busca de uma melhor forma corporal (GARCIA; LEMOS, 2003; DAMASCENO et al., 2005).

Em um treinamento de endurance, que é caracterizado por um treino realizado de 50% a 80% do  $VO_2$  máximo, tem-se, a prevalência da solicitação das

fibras do tipo I (MAUGHAM et al. *apud* FIAMONCINI, 2002) e em treinamento com pesos, quando objetiva-se a hipertrofia tem a prevalência de fibras tipo II, apresentando ainda diferenças na intensidade e nos substratos energéticos requeridos por cada exercício (ROBERGS; ROBERTS, 2002).

É de conhecimento geral na literatura de que atividade física, qualquer que seja, esportiva, dia-a-dia, profissional, tem interferência na estrutura e função miocelular, seja ela com planejamento sistemático (treinamento) ou sem planejamento, de forma intuitiva. A influência do treinamento de velocidade no metabolismo e desempenho durante o exercício de velocidade, foi avaliada por Barnett et al. (2004), em homens destreinados e recreamente ativos, seus resultados demonstraram que o treinamento intervalado de tiros não alterou a degradação glicolítica do músculo, mas por outro lado pode ter realçado a capacidade oxidativa do mesmo. Coutinho (2002) relata que a porcentagem de fibras musculares não pode ser alterada, mas o treinamento específico intenso pode elevar as capacidades das fibras e modificar sua estrutura bioquímica.

A diferenciação da capacidade bioquímica das fibras depende de vários fatores, como treinamento físico, aporte nutricional e hormônios (CAMARGO FILHO, 2005). Dentre os hormônios mais relacionados a hipertrofia muscular encontra-se a testosterona.

### **3.7. Testosterona**

O testosterona, hormônio esteróide androgênico, teve sua estrutura elucidada em 1935 por Ruzicka e Wettstein e desde então muitos estudos comprovaram sua ação anabólica e sua rápida metabolização hepática, determinado-o uma meia-vida muito curta. Ele é produzido pelas células de Leydig presente nos testículos e no sexo feminino, nos ovários em pequena quantidade, porém, em ambos os sexos o testosterona pode ser sintetizado pelo córtex da supra-renal (MORIKAWA, 2007).

Tendo em vista o fato do testosterona apresentar uma meia-vida plasmática curta, diversas modificações foram realizadas na sua estrutura com o objetivo de encontrar uma forma sintética que tenha um maior tempo de vida no

plasma e com maior atividade biológica que seja capaz de produzir uma atividade anabólica superior à atividade androgênica (BHASIN et al., 1996).

A testosterona, assim como os esteróides anabolizantes, são moléculas lipofílicas, fazendo com que atravessem facilmente a membrana plasmática, ligando-se a receptores citoplasmáticos para esteróides. O complexo droga-receptor se desloca do citosol ao núcleo e se liga ao DNA nuclear promovendo a transcrição do RNA mensageiro, que determinam a síntese proteica, caracterizando a ação anabólica dessas substâncias (MORIKAWA, 2007). Por meio desse processo, aparecem os efeitos tais como: aumento da força de contratilidade da célula muscular pelo armazenamento de fosfato de creatina; promoção do balanço nitrogenado positivo; aumento da retenção de glicogênio no músculo; aumento da captação de aminoácidos; bloqueio do cortisol (THEIN et al., 1995).

Relacionando a testosterona ao exercício, obtemos um aumento da concentração plasmática de 10-37% durante um trabalho submáximo prolongado, exercícios em níveis máximos e sessões de treinamentos de endurance ou de força. Alguns pesquisadores (BONIFAZI, 1998) acreditam que esse aumento deve-se a uma redução do volume plasmático ou a uma diminuição da taxa de inativação ou de remoção de testosterona. Porém, outros pesquisadores (CANALI, 2001), que se basearam no aumento paralelo da concentração do LH (hormônio estimulador das células intersticiais), concluíram que o aumento da concentração da testosterona decorre de um aumento da sua taxa de produção. Apesar da resposta da testosterona ao exercício ser pequena e retomar valores de repouso cerca de duas horas após o exercício, evidências mostram que a concentração de repouso é menor tanto nos homens treinados em endurance como nos treinados em força (POWERS, 2000).

### 3.7.1 Efeitos do Exercício sobre o Hormônio Testosterona

A suplementação anabólica por meio de esteróides tem por objetivo melhorar o desempenho físico e aumentar a massa muscular (HALL, 2005; LICHTENBELT, 2004). Quando utilizadas durante o treinamento físico, no aparelho locomotor, essas substâncias produzem tanto aumento da massa quanto da força muscular (WAGNER, 1989). A eficácia do uso de anabolizantes é controversa,

enquanto alguns estudos com animais chegaram a conclusão de que esteróides aliados a treinamento físico intenso não produzem aumento significativo de massa muscular quando comparado com animais submetidos somente ao treinamento físico (CAMARGO FILHO, 2006), outros estudos apontam não só o aumento da força muscular como também alto consumo de proteínas e calorias (HAUPT, 1984). Há ainda estudos que relatam a suspeita de que os esteróides anabólicos produzem hipertrofia mesmo em músculos imobilizados (TAYLOR, 1999).

Segundo Silva, Danielski e Czepielewski (2002) e Lise et al. (1999) citados por Fermo (2008) afirmam que os efeitos anabólicos são decorrentes da retenção de nitrogênio, que é um constituinte básico das proteínas, promovendo assim o crescimento e desenvolvimento da massa muscular através da melhor utilização da proteína ingerida. Sendo assim, é possível fazer uma relação direta entre o conteúdo total de nitrogênio encontrado em uma amostra com o teor de proteína do animal.

Durante uma pesquisa com ratos submetidos a natação e suplementados com um esteróide anabólico, Camargo Filho (2006) observou que as alterações morfológicas no tecido muscular caracterizadas por lesão e perda de atividade enzimática das fibras, ocorreram mais intensamente nos animais em que foi administrado o esteróide, quando comparado ao grupo controle. E em relação à medida do diâmetro das fibras musculares do sóleo, ambos os grupos treinados (suplementado e controle) apresentaram diâmetros equivalentes e maiores, quando comparados aos animais sedentários, indicando que o aumento do diâmetro das fibras musculares nesses animais, ocorreu em função do exercício físico e não pela administração do esteróide anabolizante. Ainda nessa pesquisa, a ação anabolizante pareceu ser seletiva, pois variou de acordo com a dosagem administrada e os tipos de fibras musculares.

Na pesquisa de Fermo (2008), em que o autor utilizou-se de suplementação com esteróide anabólico, porém sem a aplicação do exercício físico, os resultados forneceram evidências de que o tratamento ou administração de androgênios, em especial a testosterona, em níveis fisiológicos, está associado com ganhos significativos de massa magra. O autor ainda supõe que doses supra-fisiológicas do esteróide produzam um efeito mais expressivo.

# **4 MÉTODOS**

---

---

## **4.1 Animais**

Foram utilizados 24 ratos machos de linhagem Wistar, 60 dias de idade, fornecidos pelo Biotério Central da Universidade Estadual de Maringá, que foram mantidos no biotério setorial do Departamento de Ciências Fisiológicas sobre dieta padrão (grupo controle) e suplementados com óleo de farelo de arroz rico em gama-orizanol por gavagem (grupo gama). Os animais foram alocados em gaiolas coletivas (46 x 24 x 20 cm), quatro animais por gaiola, nas seguintes condições: temperatura de 25 °C, fotoperíodo de 12 horas claro/12 horas escuro, controlados por timer *Brasfort*®, fornecimento de alimento e água *ad libitum*. Todos os procedimentos experimentais aos quais os animais foram submetidos estes foram aprovados pelo Comitê de Conduta Ética no Uso de Animais em Experimentação da UEM (Parecer 115/2010, anexo A).

## **4.2 Procedimentos Experimentais**

Os animais foram divididos aleatoriamente em dois grupos, sedentários e treinados, e posteriormente em 3 subgrupos, os que não receberam suplementação (grupo controle) ou receberam suplementação de óleo de farelo de arroz (OFA) rico em gama orizanol (GO) em duas dosagens diferentes (grupo G3 e G6), conforme adaptado de Gobesso (2007). Então os grupos foram distribuídos da seguinte forma: Sedentários Controle (SC), Sedentários Gama-orizanol 0,3 mL/dia (SG3), Sedentários gama-orizanol 0,6 mL/dia (SG6), Treinados Controle (TC), Treinados gama-orizanol 0,3 mL/dia (TG3) e Treinados gama-orizanol 0,6 mL/dia (TG6), perfazendo um total de 6 grupos. Foi verificado o peso corporal 2 vezes na semana durante todo protocolo experimental. Precedendo o treinamento intervalado de alta intensidade, realizou-se um período de treinamento aeróbio de 3 semanas para adaptação ao ergômetro e condicionamento dos animais, para posteriormente ter início o treinamento de velocidade. Os animais após a coleta dos tecidos e

sangue foram sacrificados sob anestesia Pentobarbital sódico (Hypnol® 3%, 4 mg/100g p.c., i.p.), na condição de repouso, 24 horas após a última sessão de treinamento.

#### **4.3 Administração do Óleo de Farelo de Arroz (OFA)**

O óleo de arroz utilizado no trabalho foi doado por uma indústria processadora de óleo vegetal do sul do Brasil (Intervet/Schering-Plough Animal Health, RS).

Concomitantemente ao início do treinamento anaeróbio iniciou-se também a administração da suplementação de OFA rico em GO em duas diferentes dosagens. A suplementação ocorreu diariamente por gavagem, sempre após o término da sessão de treinamento físico para ambos os grupos, sedentários e exercitados. Os grupos controles receberam óleo de milho na mesma dosagem que o óleo de farelo de arroz. O método de gavagem consistiu na introdução de uma seringa com agulha de ponta arredondada na entrada do esôfago, sendo paulatinamente injetados os óleos de milho (controles) e farelo de arroz (gama-orizanol) nas dosagens de 0,3 mL/dia (G3) e 0,6 mL/dia (G6) conforme os grupos experimentais.

#### **4.4 Treinamento Físico**

O treinamento físico foi iniciado com 3 semanas de adaptação dos grupos treinados (TC e TG), onde os animais eram exercitados em esteira ergométrica programável (Inbramed, mod.KT3000), adaptada para treinar 8 ratos simultaneamente. Os animais iniciaram a primeira semana de adaptação com duração de 10 minutos/dia com velocidade de 0,2 Km/h a 0,6 Km/h em estágios de 2 minutos cada e frequência de 5 vezes/semana. Nas duas semanas subsequentes, a velocidade e o tempo foram gradativamente aumentados até se atingirem duração de uma hora/dia, em intensidade moderada (1,2 km/h), de acordo com protocolo estabelecido por Duflothet *al.* (1997), adaptado por Negrão *et al.* (1992). Todos os treinamentos ocorrem no Laboratório de Fisiologia do Esforço (Labfise) da UEM.

A partir da quarta semana, iniciou-se o treinamento intervalado com aumento nas velocidades. As séries alternam velocidades altas e baixas aumentando gradativamente o tempo de velocidade alta até a sessão atingir 30 minutos por dia, sendo 9 minutos de treinamento intervalado e 1 minuto de recuperação a 0,3 km/h, perfazendo 3 séries com 27 minutos de exercício e três minutos de recuperação totalizando 30 minutos/dia. Não houve alteração da inclinação da esteira que permaneceu em 0%, as velocidades oscilaram de 0,4 km/h a 1,2 km/h e a duração em cada estágio variou durante as sessões (anexo B).

**Quadro 01.** Protocolo de treinamento intervalado moderado em esteira rolante, demonstrado em semanas de treinamento, velocidade mínima e máxima de cada semana, tempo de treino e de recuperação e quantidade de séries executadas.

Semana	Velocidade	Tempo	Séries
1ª semana	0.4 à 1.0	9 min. – treino 1 min. – recuperação	3 séries
2ª semana	0.4 à 1.1	9 min. – treino 1 min. – recuperação	3 séries
3ª semana	0.4 à 1.1	9 min. – treino 1 min. – recuperação	3 séries
4ª semana	0.4 à 1.1	9 min. – treino 1 min. – recuperação	3 séries
5ª semana	0.4 à 1.2	9 min. – treino 1 min. – recuperação	3 séries
6ª semana	0.4 à 1.4	9 min. – treino 1 min. – recuperação	3 séries

#### 4.5 Máxima Velocidade em Teste Incremental

Durante três períodos (início, meio e fim) do protocolo de treinamento de intervalado foram realizados testes de carga máxima, que consiste em colocar o animal para correr na esteira em velocidade baixa (0,2km/h), por quatro minutos e, após, aumentar a intensidade de esforço a cada dois minutos em 0,2 km/h até a exaustão do animal. A exaustão foi estabelecida quando o animal não conseguia mais correr, permanecendo ao final da raia sem esboçar tentativa de movimento. Estes testes foram utilizados para verificar se o protocolo de treinamento estava promovendo melhora no condicionamento dos animais.

#### 4.6 Parâmetros Corporais

Foram acompanhados a evolução do peso corporal (duas vezes/semana), em balança Filizola®, com precisão de 1g e capacidade total de 3 kg, o consumo alimentar (duas vezes/semana) e a ingestão líquida (três vezes/semana).

#### 4.7 Coleta dos Tecidos

Os animais foram anestesiados com Pentobarbital sódico (Hypnol® 3%, 4 mg/100g p.c., i.p.), em seguida se realizou laparotomia mediana para a coleta de sangue (4 mL) da veia cava inferior e remoção de tecidos. A amostra de soro foi transferida para tubos de plástico heparinizados e mantida a 4°C até a centrifugação a 2000 rpm (4°C, 15 minutos). O plasma obtido foi armazenado a -70°C até processamento das amostras. Os tecidos foram congelados em nitrogênio líquido e estocados em freezer a -70°C para posterior processamento bioquímico ou histológico.

Os tecidos adiposos periepididimal, retroperitoneal, subcutâneo mesentérico e marrom da região subescapular foram removidos e pesados. Apenas para o território subcutâneo foi estabelecido uma área de 3 cm entre o ângulo da coxa e incisão peniana para a remoção do tecido. Nos demais territórios a gordura foi removida na totalidade.

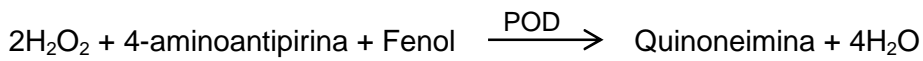
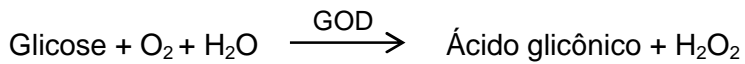
#### 4.8 Análise do Plasma

Foram utilizados os “Kits” GoldAnalisa (Belo Horizonte, MG) para as dosagens da colesterol total, HDL, triglicerídeos e glicose plasmática. Os valores de LDL foram encontrados através da fórmula:  $LDL = CT - (TG/5) - HDL$ .

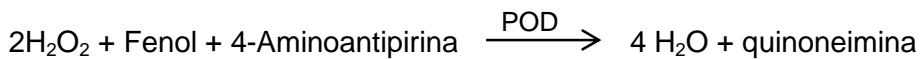
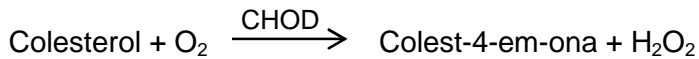
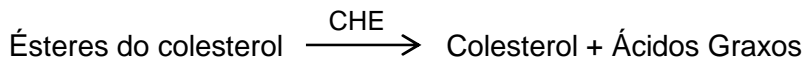
Resumidamente os métodos colorimétricos utilizados foram os seguintes:



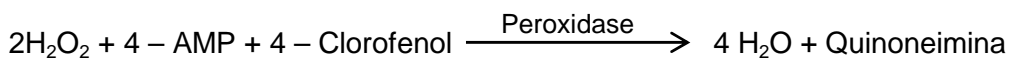
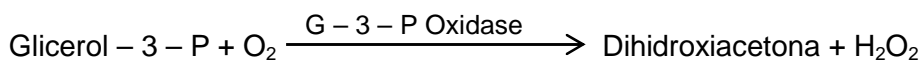
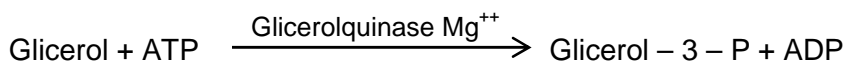
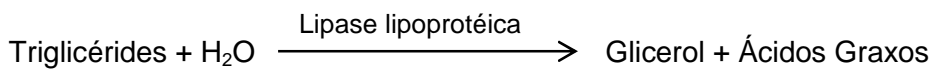
Glicose:



Colesterol Total e HDL:



Triglicérides



#### 4.9 Dosagem do Hormônio Testosterona

Alíquotas de soro foram congeladas e estocadas até o processamento do material. Os níveis de testosterona foram obtidos através do ensaio ARCHITECT Testosterona que é uma técnica de Imunoensaio Quimioluminescente por Microparticulas (CMIA) para determinação quantitativa de testosterona em soro e plasma do laboratório Abbott do Brasil Ltda, e o equipamento utilizado foi o Architect i1000, e os valores expressos em ng/mL.

#### 4.10 Análise do Glicogênio

O músculo sóleo dos animais foi rapidamente removido, imerso em nitrogênio líquido e pesado. Cerca de 1,5 g do músculo congelada foi moída, pela adição de nitrogênio líquido. Ácido perclórico 0,6 N foi adicionado e a massa

resultante foi homogeneizada e centrifugada (10 min a 6.000 rpm) e alíquotas de 100µL foram utilizados para determinar os níveis de glicose livre.

Em outra alíquota do sobrenadante foi adicionado amiloglucosidase (50µL), juntamente com bicarbonato de potássio (50µL) e acetato de sódio (960µL). A solução foi incubada a 40°C em banho-maria, sob agitação por duas horas, e a reação enzimática foi interrompida pela adição de ácido perclórico 0,6 N (500µL).

Finalmente, após nova centrifugação (10 min a 6.000 rpm), alíquotas do sobrenadante (100µL) foram utilizadas para determinar a concentração de glicose total, ou seja, a glicose livre, além de glicose no glicogênio. A absorbância foi medida em espectrofotômetro 490nm (OLIVEIRA et al., 2007).

#### 4.11 Análises Histológicas e Morfológicas Muscular

Para o estudo das fibras musculares, o gastrocnêmio direito do animal foi retirado e então coberto com talco para a preservação do tecido, de acordo com técnica de Moline e Glenner (1964) e congelado em nitrogênio líquido. Os músculos foram mantidos a -80°C até preparação histoenzimológica.

#### 4.12 Preparo Histoenzimológico das Fibras Musculares

Para a técnica da Nicotinamida adenina dinucleotideo tetrazolio redutase (NADH-TR), as amostras do músculo gastrocnêmio foram congeladas em nitrogênio líquido a -196°C e armazenadas em freezer a -80°C. Posteriormente o músculo foi mantido em criostato (LEICA CM – 1850 – Alemanha) à temperatura de -25°C. Os blocos de tecidos musculares foram fixados em suportes metálicos do criostato através de pequenas quantidades de adesivo (OCT – Tissue Tek Compound), e posteriormente foram realizados cortes transversais com 12 µm de espessura.

#### 4.13 Análise Histoquímica das Fibras Musculares

As análises histoquímicas foram utilizadas para identificar e distinguir os tipos de fibras musculares. Foram realizadas dez secções transversais seriadas com 12 $\mu$  de espessura em cada amostra do músculo gastrocnêmio em criostato a -25°C. Os cortes foram dispostos em duas lâminas histológicas, mantidas à temperatura ambiente, para a secagem e aderência dos mesmos. Os cortes foram submetidos à técnica da Nicotinamida adenina dinucleotideo tetrazolio redutase (NADH-TR), conforme técnica de Pearse (1972) modificada por Dubowitz e Brooke (1973), em que foi analisado o metabolismo oxidativo e glicolítico.

Posteriormente, foram incubados durante 40 minutos na estufa a 37°C no meio contendo NADH-TR, NBT e tampão Tris 0,2M pH 7,4. Em seguida, submetidos a lavagens sucessivas em água destilada. Posteriormente, foram fixados em formol 5% tamponado pH 7,0, durante cinco minutos, e lavados em água destilada, e montados com glicerina bidestilada.

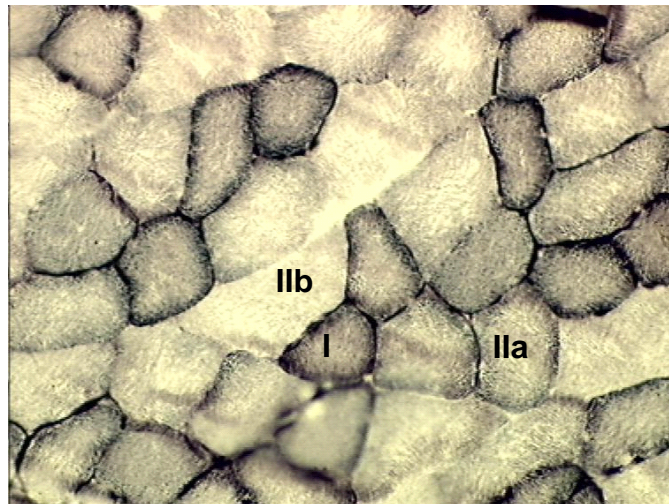
#### 4.14 Obtenção das Imagens dos Músculos

Os cortes histológicos, corados mediante as técnicas histoquímicas, foram digitalizados em campos idênticos a partir da realização de fotomicrografias de cada secção utilizando um sistema de processamento de imagens computadorizado equipado com um microscópio Leica DMLS3 acoplado a uma câmara ICCA de alta resolução. De acordo com a técnica utilizada, identificaram-se as fibras musculares segundo o grau de reação histoenzimática.

A determinação da frequência e da área das fibras foi obtida utilizando o programa de análises de imagens *Image-Pro<sup>®</sup> Plus, version 4.5.0.29 for Windows*, contando entre 100 e 200 fibras por amostra. As mesmas fibras marcadas para a verificação da frequência foram utilizadas para medir a área.

#### 4.15 Identificação dos Tipos de Fibras Musculares

As fibras musculares foram classificadas em oxidativas e ou glicolíticas segundo a intensidade da reação mediante a técnica NADH-TR, que determina seu metabolismo energético. As fibras tipo I demonstraram reação fortemente positiva, assumindo coloração roxo intenso, indicando um metabolismo energético oxidativo. As fibras tipo IIa reagiram moderadamente à técnica NADH-TR, mostrando coloração moderada a intensa, intermediária entre as fibras tipo I e IIb. As fibras tipo IIb não reagiram com a técnica NADH-TR, assumindo coloração rosa clara, mostrando-se glicolíticas.



**Figura 1.** Técnica histoquímica pelo método da Nicotinamida adenina dinucleotídeo tetrazólio redutase (NADH-TR), para identificação dos diferentes tipos de fibras no tecido muscular (fibra tipo I; fibra tipo IIa e fibra tipo IIb). Imagem do próprio estudo. Animal 13 (TG3).

#### 4.16 Tratamento dos Dados

Para verificação da normalidade dos dados foi utilizado o teste de Shapiro Wilk. Como os dados não apresentaram distribuição normal foi utilizado para comparação entre os grupos sedentários e treinados o teste U Mann Whitney. Para comparação entre os 6 grupos, após a verificação da homogeneidade dos

dados (Levene), foi realizada Anova One-Way, posteriormente para localizar a diferença utilizou o post-hoc de Tukey. A significância adotada foi de  $p < 0,05$ .

# 5 RESULTADOS

## 5.1 Peso Corporal e Adiposidade

Ao submetermos ratos adultos à suplementação de OFA rico em GO e ao treinamento físico intervalado de moderada intensidade podemos observar que houve redução significativa do peso corporal final, embora os animais dos grupos SG3 e SG6 apresentarem uma tendência à perda de peso. Entretanto, quando observado o ganho de peso corporal durante todo o protocolo experimental, os animais suplementados (SG3 e SG6) e os treinados (TC) mostraram perdas em torno de 30% do ganho de peso ( $p < 0,05$ ), sendo que para os grupos onde houve associação de treinamento e suplementação de OFA estas perdas ficaram próximas a 40%, conforme tabela 01. Com isso, podemos dizer que o uso do suplemento isolado (SG3 e SG6) ou apenas a prática de exercício (TC) interfere no peso corporal, porém ao associar a OFA rico em GO com treinamento físico a propensão a ganhar peso corporal fica mais reduzida (TG3 e TG6).

Não ocorreram efeitos colaterais, como diarreia ou morte, decorrente da administração dos óleos, ou lesões decorrentes do treinamento físico.

**Tabela 01.** Peso corporal de animais sedentários (S) ou submetidos a 6 semanas de treinamento intervalado (T) e suplementação de óleo de farelo de arroz rico em gama-orzanol na dosagem de 0,3 mL (G3) e 0,6 mL (G6) por animal ou óleo de milho (C).

	Peso corporal Inicial (g)	Peso corporal Final (g)	Delta do peso Corporal	% redução no ganho de peso em relação ao SC
<b>SC</b>	372,3 (6,3)	474,7 (4,3)	105,0 (7,3)	-----
<b>SG3</b>	368,6 (8,9)	430,0 (14,5)	72,1 (8,1)*	↓ 31,3%
<b>SG6</b>	373,1 (5,3)	440,8 (12,4)	73,6 (12,1)*	↓ 29,9%
<b>TC</b>	367,0 (7,6)	440,1 (7,6)*	73,1 (7,4)*	↓ 30,4%
<b>TG3</b>	370,3 (6,8)	431,3 (7,0)*	64,7 (7,1)*	↓ 38,4%
<b>TG6</b>	360,9 (7,9)	426,7 (2,9)*	64,1 (7,0)*	↓ 39,0%

Valores mostram à mediana e a diferença entre o 1º e 3º quartis, n = 4. \* em relação ao grupo SC.  $p < 0,05$

Após seis semanas de treinamento físico associado ou não a suplementação de OFA para os diferentes coxins adiposos, apenas as gorduras viscerais mostraram diferenças significativas, porém não ocorreram mudanças em todos os grupos (tabela 2). Para a gordura retroperitoneal, as reduções destes coxins ocorreram para os grupos SG3, SG6, TC e TG3. No território periepididimal apenas o grupo SG3 mostrou redução no peso do coxim. Na gordura mesentérica apenas os animais que não fizeram exercício e receberam OFA (SG3 e SG6) reduziram a adiposidade.

Nos depósitos de gordura periféricos (subcutâneo e marrom), nenhuma diferença significativa foi observada para os animais sedentários ou treinados, independentemente da suplementação. Entretanto, observou-se uma redução de cerca de 30% no coxim adiposo marrom dos animais treinados e suplementados com OFA.

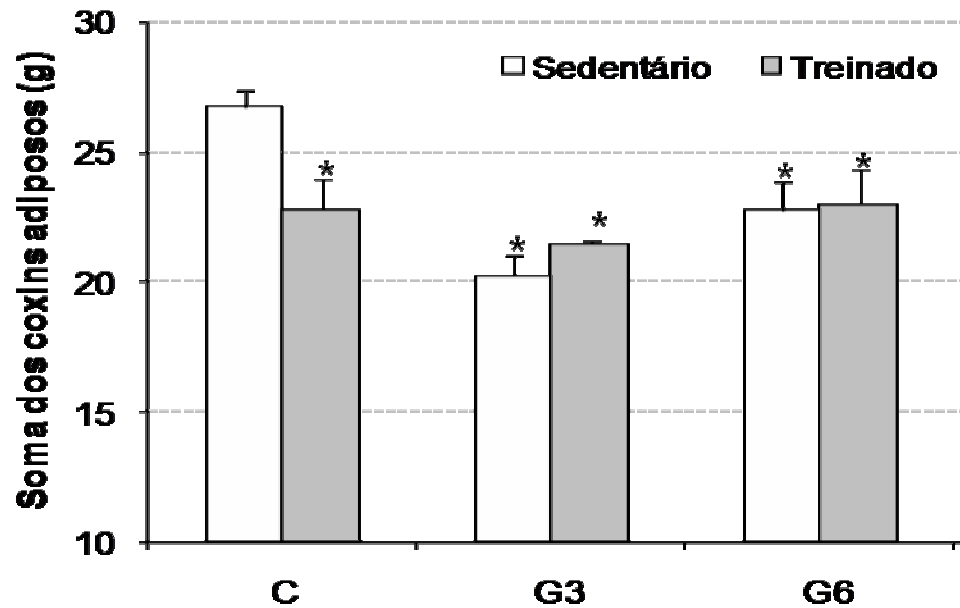
**TABELA 02.** Coxins adiposos de diferentes regiões corporais de ratos controles (C) e suplementados (G) com óleo de farelo de arroz rico em gama-orizanol que realizaram treinamento intervalado de moderada intensidade em esteira rolante (T) ou permaneceram sedentários (S).

	Gordura Retroperitoneal	Gordura Periepididimal	Gordura Mesentérica	Gordura Subcutânea	Gordura Marrom
<b>SC</b>	7,5 (0,2)	6,9 (0,3)	6,3 (0,3)	5,6 (0,2)	0,32 (0,03)
<b>SG3</b>	4,5 (0,8)*	4,9 (0,8)*	4,1 (0,6)*	4,6 (0,6)	0,30 (0,01)
<b>SG6</b>	5,8 (0,4)*	6,0 (0,7)	4,6 (0,3)*	5,9 (0,3)	0,28 (0,04)
<b>TC</b>	5,7 (0,5)*	5,9 (0,6)	4,9 (0,3)	5,9 (0,3)	0,26 (0,03)
<b>TG3</b>	5,1 (0,4)*	5,6 (0,5)	4,9 (0,5)	5,5 (0,2)	0,22 (0,02)
<b>TG6</b>	6,4 (0,4)	5,6 (0,5)	5,0 (0,3)	5,7 (0,7)	0,22 (0,02)

Valores mostram à mediana e a diferença entre o 1º e 3º quartis, n = 4. \* em relação ao grupo SC. p < 0,05

A figura 2 demonstra a adiposidade dos animais, através do somatório dos coxins adiposos, para cada tipo de intervenção realizada. Embora isoladamente em cada território tenham se encontrado poucas diferenças, ao se efetuar a soma desses valores, observou-se que a suplementação foi capaz de reduzir os coxins adiposos nas duas diferentes dosagens de OFA.

Já os animais submetidos ao treinamento físico tiveram redução na adiposidade quando comparado aos animais do grupo SC, porém com perda similar aos grupos sedentários suplementados independentemente da dosagem do OFA que foi administrada.



**Figura 2.** Somatório dos coxins adiposos de ratos sedentários (S) e treinados (T) após 6 semanas de suplementação com óleo de farelo de arroz rico em gama-orizanol. Animais do grupo controle (C), óleo de farelo de arroz na dosagem de 0,3 mL (G3), 0,6 mL (G6). Valores indicam a mediana e a diferença entre o 1<sup>o</sup> e 3<sup>o</sup> quartis, n = 4 animais, \* em relação ao grupo sedentário controle (SC). p<0,05

## 5.2 Perfil Lipídico Plasmático

A tabela 3 apresenta as concentrações plasmáticas de diferentes lípidos. Houve uma redução do CT apenas para os animais TG3 quando comparados aos animais SC e SG3. As concentrações de LDL-C foram reduzidas em todos os grupos suplementados e/ou treinados, sendo que para o grupo TG3 esta redução foi acima de 60%, para os demais grupos os valores foram entre 26% e 42% menores em relação ao SC.

Na concentração de HDL-C, houve uma redução significativa entre os grupos controles e treinados, tanto para os grupos suplementados com OFA quanto para aqueles que receberam placebo, indicando um efeito adverso sobre esta variável. A razão CT/HDL-C após seis semanas de treinamento físico e suplementação de OFA não diferiu entre os grupos.



**TABELA 03.** Perfil plasmático lipídico de ratos suplementados com óleo de farelo de arroz rico em gama-orizanol que realizaram treinamento intervalado de moderada intensidade em esteira rolante (T) ou permaneceram sedentários (S).

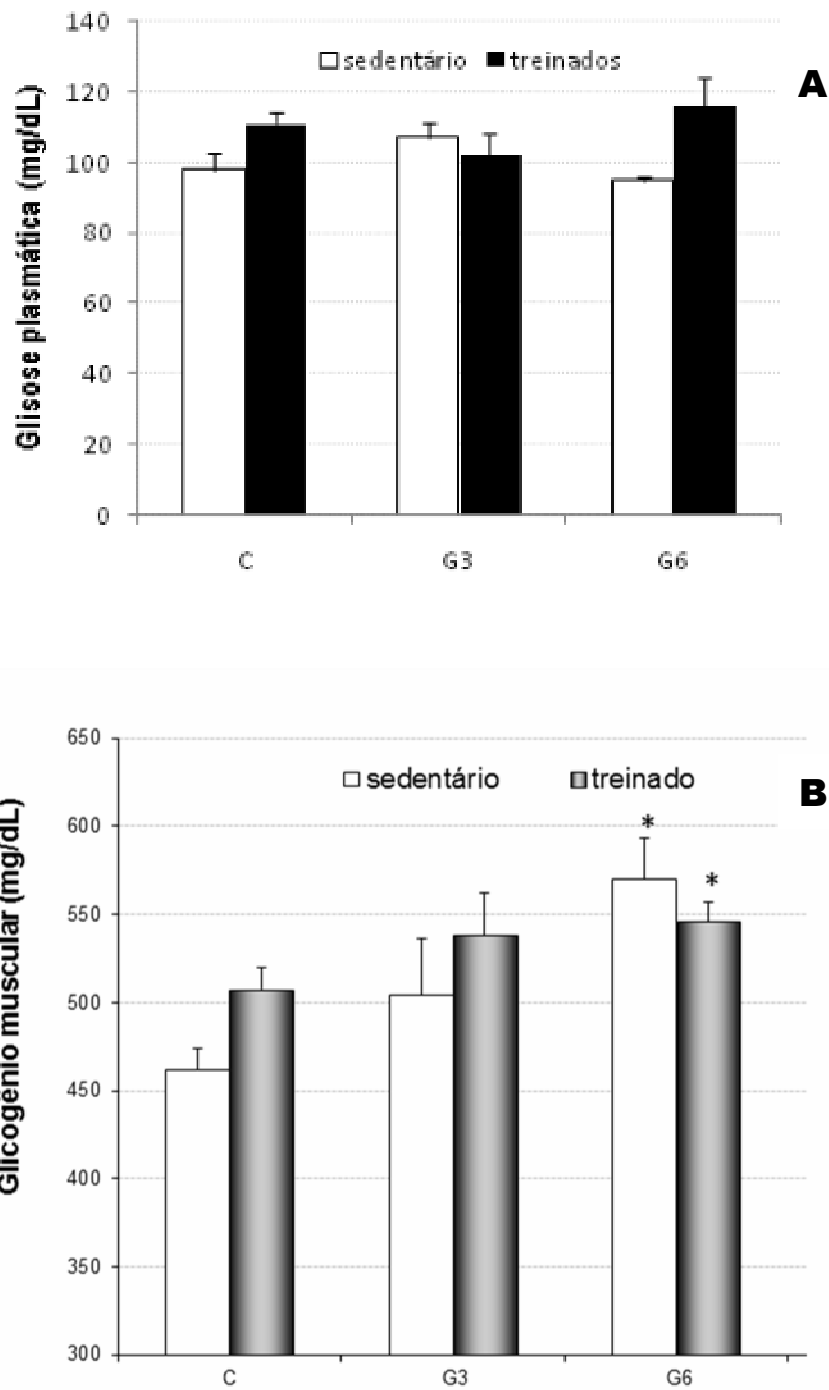
	CT	LDL-C	HDL-C	CT/HDL-C	TG
<b>SC</b>	73,3 (2,23)	18,0 (1,04)	55,0 (4,00)	1,3 (0,02)	51,7 (8,00)
<b>SG3</b>	74,2 (6,93)	11,3 (2,58)*	55,2 (3,75)	1,4 (0,07)	44,0 (6,00)*
<b>SG6</b>	69,5 (7,70)	13,3 (1,60)*	53,5 (6,00)	1,3 (0,05)	41,5 (2,00)*
<b>TC</b>	72,2 (2,81)	12,9 (5,42)*	48,2 (2,25)*	1,3 (0,07)	51,5 (2,00)
<b>TG3</b>	63,6 (3,48)**	6,9 (1,04)*	48,5 (2,25)#	1,3 (0,02)	46,2 (5,75)*
<b>TG6</b>	71,2 (6,30)	8,7 (4,73)*	47,0 (4,75)%	1,5 (0,09)	36,7 (4,00)*

Valores mostram à mediana e a diferença entre o 1º e 3º quartis, n = 4. \* em relação ao grupo SC, # em relação ao grupo SG3, e % em relação ao grupo SG6. p < 0,05 CT: colesterol total, LDL-C: colesterol de baixa densidade, HDL-C: colesterol de moderada densidade, CT/HDL-C: razão CT por HDL-C, TG: triglicerídeos.

Os níveis de triglicerídeos plasmáticos foram significativamente menores para os animais que foram suplementados com 0,3 mL e 0,6 mL de OFA, independente da sua condição física. O treinamento físico isoladamente não alterou este parâmetro.

### 5.3 Biomarcadores de Carboidratos

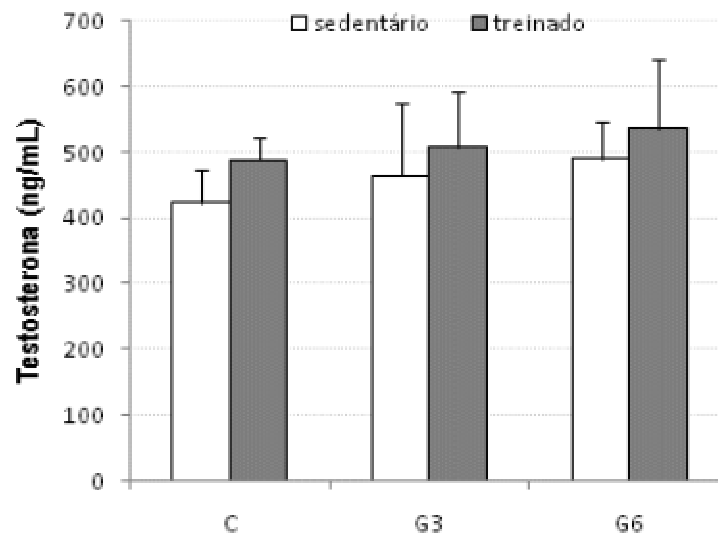
Os níveis de glicose no plasma não diferiram entre os grupos experimentais (figura 3A). Para o glicogênio muscular apenas os animais que receberam a suplementação na dosagem de 0,6 mL de OFA (SG6 e TG6) tiveram os seus níveis significativamente elevados quando comparados aos animais SC (figura 3B).



**Figura 3.** Em **A)** Glicose plasmática (mg/dL) e em **B)** Glicogênio muscular (mg/100g) de ratos sedentários (S) e treinados (T) após 6 semanas de suplementação com óleo de farelo de arroz rico em gama-orizanol. Animais do grupo controle (C), óleo de farelo de arroz na dosagem de 0,3 mL (G3), 0,6 mL (G6). Valores indicam à mediana e a diferença entre o 1<sup>o</sup> e 3<sup>o</sup> quartis, n = 4 animais, \* em relação ao grupo sedentário controle (SC).  $p < 0,05$

#### 5.4 Níveis de Testosterona

A análise dos níveis plasmáticos referente ao hormônio testosterona mostrou que nem a suplementação de OFA nem o treinamento físico imposto aos animais por seis semanas foram suficientes para gerar alterações significativas sobre este parâmetro.



**Figura 4.** Níveis de testosterona (ng/mL) de ratos sedentários (S) e treinados (T) após 6 semanas de suplementação com óleo de farelo de arroz rico em gama-orizanol. Animais do grupo controle (C), óleo de farelo de arroz na dosagem de 0,3 mL (G3), 0,6 mL (G6). Valores indicam à mediana e a diferença entre o 1º e 3º quartis, n = 4 animais.

#### 5.5 Fibras Musculares

Foram analisadas as fibras musculares do gastrocnêmio em relação ao tipo e quantidades presentes neste músculo. A tabela 4 demonstra a quantidade de fibras oxidativas (tipo I) e glicolíticas (tipo IIa e 2b).

**Tabela 04.** Quantificação das fibras musculares do gastrocnêmio (unidade arbitrária) analisadas em relação a tipagem de ratos suplementados com óleo de arroz rico em gama orizanol e submetidos a treinamento físico durante seis semanas.

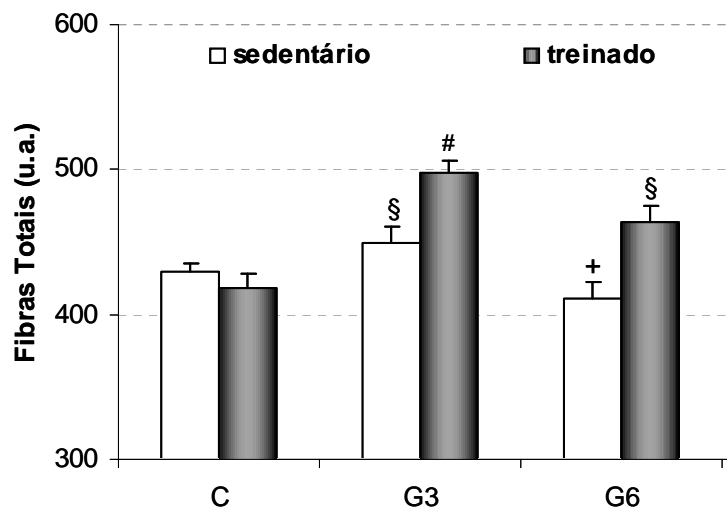
	<b>Fibras Tipo I</b>	<b>Fibras Tipo IIa</b>	<b>Fibras tipo IIb</b>
<b>SC</b>	125,5 (3,9)	119,5 (3,2)	185,7 (3,7)
<b>SG3</b>	115,5 (3,6)	138,2 (5,0) <sup>a</sup>	196,5 (4,0) <sup>c</sup>
<b>SG6</b>	117,0 (2,0)	122,5 (3,7)	181,7 (6,3)
<b>TC</b>	110,7 (3,2) <sup>a</sup>	113,2 (3,4)	193,7 (8,7) <sup>c</sup>
<b>TG3</b>	170,7 (4,7) <sup>b</sup>	152,0 (4,7) <sup>b</sup>	175,0 (2,7)
<b>TG6</b>	152,7 (3,0) <sup>b</sup>	118,7 (6,7)	192,2 (6,5) <sup>c</sup>

Valores expressam à mediana e a diferença entre o 1<sup>o</sup> e 3<sup>o</sup> quartis, n = 4 animais; <sup>a</sup> em relação ao SC; <sup>b</sup> em relação aos demais grupos; <sup>c</sup> em relação aos demais grupos exceto SG3,TC, TG6.  $p < 0,05$

Em relação as fibras oxidativas (tipo I) foi observado que a suplementação de OFA isoladamente não mostrou influenciar no número de fibras. Por outro lado, o treinamento físico isoladamente (TC) apresentou uma redução significativa quando comparada ao grupo sedentário controle. Entretanto, quando o treinamento físico foi associado à suplementação do óleo, pode-se notar um aumento expressivo deste tipo de fibra (TG3 e TG6).

Para as fibras glicolíticas (tipo II) o padrão de resposta foi similar entre os grupos sedentários para ambos os subtipos (a e b), sendo que apenas o grupo SG3 teve aumento significativo. Já para os animais treinados houve respostas diferenciadas para cada subtipo de fibra tipo II e de dosagem de OFA.

Na figura 5 ilustra os dados relacionados ao somatório total das fibras analisadas no músculo gastrocnêmio. Foi possível observar que, tanto para os animais sedentários quanto treinados, os aumentos mais significativos foram observados quando foi administrado 0,3 mL de OFA.



**Figura 5.** Quantidade total de fibras (somatório entre tipo I, IIa e IIb) de animais suplementados com óleo de arroz rico em gama orizanol em diferentes concentrações e submetidos ao treinamento físico. Dados foram quantificados através de técnica NADH-TR. Os valores mostram a mediana e a diferença entre o 1º e 3º quartil de 4 animais por grupo. § em relação ao grupo TC, # em relação aos demais grupos e + em relação ao TG6.  $p < 0,05$

**Tabela 05.** Área das fibras musculares do gastrocnêmio, divididas pelos tipos e subtipos de fibras, de ratos treinados (T) e sedentários (S) que receberam ou não suplementação com óleo de farelo de arroz rico em GO em duas dosagens 0,3 mL (3) e 0,6 mL (6).

	Tipo I	Tipo IIa	Tipo IIb
SC	6,9 (1,41)	9,2 (0,61) *	12,5 (1,13)
SG3	6,9 (1,07)	9,4 (0,56)	14,8 (0,65) %
SG6	5,7 (1,53)	11,5 (1,58)	16,1 (0,68) %
TC	6,2 (0,85)	10,5 (1,70)	19,2 (0,45) %
TG3	5,6 (1,07)	8,3 (1,42) #	16,2 (0,74) % #
TG6	6,9 (0,87) *	9,16 (1,15) *	14,2 (2,24) % #*

Valores expressam a mediana e a diferença entre o 1º e 3º quartil,  $n = 4$  animais; \* em relação ao SG6; # em relação ao TC; % em relação ao SC.  $p < 0,05$

Na tabela 05 estão apresentados os valores das áreas das fibras musculares de acordo com o seu tipo (I e II) e subtipo (a e b), podemos observar que a resposta ao treinamento e a suplementação foi diferenciada dependendo do tipo de fibra. No tipo I, apenas o par de grupos SG6 e TG6 diferiram significativamente entre si.

Já no tipo IIa, além da diferença entre SG6 e TG6, o grupo SG6 diferenciou-se do SC, apontando que a dosagem do OFA influencia o aumento da área da fibra e não o exercício como no tipo I. O grupo TG3 apresentou diferença significativa em relação ao TC, mostrando que a dosagem de 0,3 mL associada ao treinamento diminui o tamanho da área nesse tipo de fibra.

Na fibra tipo IIb, todos os grupos apresentaram aumento de área quando comparados aos animais SC, sendo o maior aumento na área encontrado no grupo TC (53%). Os demais grupos apresentaram aumentos em torno de 18 a 29%.

## 6 DISCUSSÃO

---

---

O uso de fitoesteróides, como o gama-orizanol presente no óleo de farelo de arroz, tem obtido popularidade entre vários grupos atléticos e eles têm sido utilizado atualmente como suplementos para melhora da *performance*, especialmente em cavalos de competição, mas seu uso tem se destacado na melhora do perfil lipídico em humanos e animais hipercolesterolinêmicos. Segundo Cicero e Gaddi (2001), muito do consumo de gama Orizanol por humanos ocorre pela crença de que este pode gerar efeitos anabólicos, que variam do aumento na produção e liberação de testosterona, à estimulação na liberação do GH.

Esta pesquisa procurou investigar o efeito da suplementação de óleo de arroz rico em gama orizanol em diferentes concentrações associadas ou não a um treinamento intervalado em esteira rolante sobre aspectos referentes às alterações morfofuncionais.

Nossos resultados apontam que a menor dosagem suplementada (0,3 mL) isoladamente ou combinada com o treinamento físico apresentou para a maioria dos dados as melhores respostas morfofisiológicas.

Nossos dados apontam redução do ganho de peso corporal dos animais suplementados, sedentários ou quando submetidos ao treinamento físico (tabela 1). Alguns estudos encontraram resultados diferentes em relação a este parâmetro, onde em cavalos de corrida de tambor (GOBESSO et al., 2006), em garanhões (GONZAGA, 2008) e em ratos (SCOTT et al., 1989; DAVISON et al., 1991) houve aumento de peso corporal pela suplementação de óleo de arroz rico em gama-orizanol, refletindo o possível efeito anabólico deste composto. Bucci (1989) sugere ainda que a suplementação de gama-orizanol pode aumentar a massa corporal, enquanto diminui o peso da gordura. No estudo com ratos diabéticos (CHOU et al., 2009), com cavalos (MARTINS, 2007; OLIVEIRA et al., 2010) não foi observado alteração no peso corporal ou no ganho de peso.

Outro dado interessante é que as diferentes regiões de coxins adiposos responderam de forma distinta a suplementação e ao treinamento quando analisados isoladamente. Os depósitos de gordura subcutânea e marrom (subescapular) não foram responsivos a suplementação, ao treinamento ou a associação destes fatores. Por outro lado, as regiões viscerais (mesentérica, periepididimal e retroperitoneal) mostraram redução significativa no peso dos coxins quando suplementadas com o OAG principalmente na menor concentração. O treinamento intervalado isoladamente provocou reduções apenas no coxim retroperitoneal.

Ao avaliar o somatório das massas adiposas observa-se um efeito cumulativo dos diferentes territórios onde a suplementação de OAG reduziu o peso dos coxins em ambas as dosagens. O treinamento intervalado causou redução nos animais TC, TG3 e TG6. São raros os estudos que mostram este tipo de avaliação associado ao treinamento físico, à maioria, como o estudo de Bucci (1989) avalia apenas animais na condição sedentária. Neste caso, o autor também encontrou diminuição na massa adiposa.

Assim, a menor concentração de suplementação associada ou não com o treinamento intervalado demonstrou ser a dosagem mais eficiente neste estudo para promover reduções na adiposidade e consequente morfologia do animal. Da mesma forma, outros estudos têm demonstrado que a capacidade do OFA alterar a oxidação lipídica depende de sua concentração (GERTZ et al., 2000; HUANG et al., 2002; JULIANO et al., 2005; NYSTRÖM et al., 2005).

Os resultados referentes ao perfil lipídico plasmáticos, descritos na tabela 3, apontam redução expressiva dos níveis de colesterol LDL-C, colesterol total e triglicerídeos e novamente foi observada uma melhor resposta para os animais suplementados com OFA na menor dosagem.

Tanto em humanos como em roedores a atividade de redução dos níveis de colesterol plasmático tem sido muito estudada e assim como encontrado neste estudo, Ha et al. (2005) encontraram que os níveis de colesterol e triglicerídeos de ratos alimentados com dietas ricas em colesterol foram reduzidos quando se empregou concentrado de substâncias bioativas do óleo do farelo de arroz como suplemento. Frank et al. (2005), observaram



diminuição do colesterol total e do LDL-C em éguas tratadas com dietas suplementadas com óleo de arroz bruto.

O efeito do óleo de arroz sobre a redução da concentração plasmática de colesterol total e LDL-C também foi demonstrado em ratos (RUKMINI e RAGHURAM, 1991; SUNITHA et al., 1997) e em humanos (WILSON et al., 2007).

Num estudo com garanhões, Gonzaga (2008), verificou um aumento dos valores médios de colesterol total e LDL-C. Já McCann et al. (1987); Hambleton et al. (1990) e Hallebeek e Beynen (2002) afirmaram que a adição de lipídeos na dieta não obteve nenhum efeito sobre os níveis de colesterol plasmático.

Wilson et al. (2007) ministraram o gama orizanol e ácido ferúlico na proporção de 0,5% em dietas para ratos hipercolesterolêmicos. Observaram que as dietas contendo 10% de óleo de arroz e 0,5% de gama-orizanol diminuíram significativamente a concentração dos triglicerídeos plasmáticos. As dietas contendo ácido ferúlico e gama orizanol produziram significativa redução nos níveis de lipídeos oxidados no plasma. Os ratos alimentados com gama orizanol excretaram significativamente mais coprostenol e colesterol em suas fezes. Ainda, as dietas com ácido ferúlico aumentaram os níveis séricos de vitamina E. Segundo os mesmos autores, o gama-orizanol e o ácido ferúlico podem exercer propriedades antiarterogênicas similares, mas mediante mecanismos diferentes.

Já nos estudos com equinos de Geelen (2001), Hallebeek e Beynen (2002) e Gonzaga (2008), não foi encontrado diferença significativa nos valores de triglicerídeos.

Nossos resultados, quanto ao HDL-C, foi de redução no valor médio dos grupos que treinaram e receberam a suplementação. Esse resultado vai de encontro com o estudo de Gonzaga (2008) que encontrou aumento significativo nos valores médios de HDL-C.

Vários estudos indicam um efeito hipocolesterolímico de alguns insaponificáveis, em particular, componentes esteróis de plantas (GRUNDY; MOK, 1977; LEES et al., 1977; HEINEMANN et al., 1986), sendo alguns esteróis vegetais mais ativos do que outros. Também efeitos na redução

de colesterol pelos tocotrienóis, análogos do tocoferol e orizanol, tem sido reportado (SAKAMOTO et al., 1987; YOSHINO et al., 1989).

Tocotrienóis do óleo do farelo de arroz têm sido relacionados com a diminuição do colesterol LDL mediante redução da atividade HMG-CoA reductase, mas segundo Kerckhoffs et al. (2000) os resultados são controversos.

Por outro lado, quando observado o efeito do farelo de arroz e não do OFA sobre o perfil lipídico a resposta está associada ao fato de que o farelo consiste em quase 27% de fibra dietética e desta forma está fortemente relacionado com a redução do teor de colesterol sanguíneo. Pode-se ainda associar a ingestão de fibra do arroz com a prevenção de doenças cardiovasculares, diabetes, diverticulose e câncer de cólon (ABDULHAMID e LUAN, 2000).

A suplementação do óleo de farelo de arroz rico em gama-orizanol associada com o treinamento físico foi relevante principalmente nos níveis de colesterol LDL e triglicerídeos, porém na morfologia adiposa a suplementação isolada foi mais eficiente do que o treinamento propriamente dito ou ele associado a suplementação.

Em relação aos biomarcadores de carboidratos, foi observado que não houve alteração nos níveis plasmáticos de glicose (figura 3A) e apenas para os animais que foram suplementados com OFA a 0,6 mL tiveram aumentos no glicogênio muscular (figura 3B). Este foi um dos únicos parâmetros do nosso estudo onde a maior dosagem do OFA obteve uma melhor resposta.

No único estudo que encontramos que relatou o metabolismo de carboidratos e gama-orizanol, sem envolver exercício físico, não foi observada alterações na glicemia (WHEELER; GARLEB, 1991). A grande maioria dos estudos relata as alterações no perfil lipídico dos animais ou de humanos, não fazendo nenhuma referência quanto ao perfil glicêmico. Nosso estudo é o primeiro que trata da relação do OFA com treinamento intervalado e biomarcadores de carboidratos.

Por uma limitação técnica não foi possível mensurar a concentração plasmática de insulina, o que poderia levar a um melhor entendimento do metabolismo glicídico sob as interferências impostas pelo

protocolo de nosso estudo. Por outro lado, em estudo realizado com ratos diabéticos suplementados com OFA os autores observaram que ocorreu supressão da hiperinsulinemia, mas ainda não se conhece o mecanismo exato responsável por este efeito (CHOU et al., 2009).

Quanto ao aumento no glicogênio muscular, nossos resultados vão ao encontro dos resultados encontrados por Serrano et al. (2000), que detectaram aumento do conteúdo de glicogênio intramuscular após três meses de treinamento aeróbio em cavalos, Gansen et al. (1999) observaram que as concentrações aumentaram. Porém alguns estudos não observaram alterações na reserva de glicogênio (HELGE et al., 1998; OAKI et al., 2003; D'ANGELIS, 2004; MARTINS, 2007;).

Embora os lipídeos sejam os substratos energéticos predominantes para a realização de exercícios submáximos, a fadiga nesses casos tem sido associada ao esgotamento de glicogênio intramuscular (VALBERG, 1986). Bergstrom et al. (1967) relataram que atletas com maior concentração de glicogênio muscular apresentaram maior desempenho físico e dessa forma, o aumento das reservas de glicogênio muscular adquiridas com o treinamento tem sido interpretado como benéfico.

De acordo com Dunnett et al. (2002) a vantagem de utilizar dietas hiperlipídicas concomitante ao treinamento físico é favorecer a utilização de ácidos graxos como substrato para o metabolismo energético. Como consequência desta alteração metabólica ocorre a economia de outros substratos como a glicose plasmática, aminoácidos e o glicogênio muscular.

A testosterona foi investigada neste estudo pelo seu papel de hormônio anabólico e pelo fato do OFA rico em gama-orizanol ser comercializado como um promotor de crescimento. Nossos dados mostraram não haver diferenças nas concentrações de testosterona durante o período de seis semanas de treinamento físico e suplementação de OFA.

Embora alguns estudos apontem uma variação nos níveis de testosterona com o uso de gama-orizanol (IERI et al., 1982; GOBESSO, 2006), melhora do crescimento e do percentual de massa muscular (SUGANO et al., 1999) e aumento na resistência física e redução da gordura corporal (GOBESSO et al.; 2007). Outras pesquisas relatam que este fitoesteróide não tem efeito sobre os níveis circulantes de testosterona (FRY et al.; 1997) ou até

mesmo levantam a possibilidade de uma redução deste hormônio (WHEELER; GARLEB, 1991).

Nosso resultado em relação a testosterona esta de acordo com os encontrados em outras espécies como: cavalos (ARLAS, 2008; GONZAGA, 2008), humanos (FRY et al., 1997), cães (HATAMOTO et al., 2006), suínos (AUDET et al., 2004) e coelhos (ANDREAZZI et al., 2002).

As fibras musculares foram classificadas em oxidativas e/ou glicolíticas segundo a intensidade da reação utilizando a técnica NADH-TR que determina seu metabolismo energético. As fibras tipo I demonstraram reação fortemente positiva, assumindo coloração cinza intenso, indicando metabolismo energético oxidativo. As fibras tipo IIa reagiram moderadamente, mostrando coloração moderada a intensa, intermediária entre as fibras tipo I e IIb, com intensa reação na periferia da célula. As fibras tipo IIb reagiram fracamente à técnica NADH-TR, assumindo coloração clara, mostrando-se glicolíticas (figura 1 e tabela 4).

Há poucos estudos com exercícios intervalados onde se pesquisem alterações em fibras musculares. No exercício agudo contínuo submáximo há predominância do recrutamento de fibras tipo I, o que pode ser observado pela maior depleção de glicogênio nessas fibras em comparação com as do Tipo II (STALLKNECHT et al., 1998).

Em um estudo realizado por Ferreira (2004), utilizando ratos Wistar, foi observado o efeito do treinamento intermitente nas fibras musculares, havendo um aumento significativo nas fibras híbridas do tipo I, IIA e IIB, e apenas as fibras do tipo IIB tiveram aumento significativo em sua área.

Para Demirel et al. (1999); Caiozzo et al. (2000); Campos et al. (2002) um treinamento com exercícios de baixa intensidade e longa duração pode induzir uma conversão de fibras no sentido de IIB para I; em oposição, um treino de alta intensidade e curta duração pode surtir efeito contrário, de I para IIB.

A alimentação, assim como, o tipo de exercício desenvolvido são fatores que influenciam a adaptação das fibras musculares (RIVERO e PIERCY, 2004). O teor total de fibras do músculo esquelético mostrou-se significativamente aumentado para os animais suplementados com 0,3 mL de OFA, principalmente quando associado ao exercício (figura 5). Também o teor

de fibras do tipo I (oxidativas) e tipo IIa (glicolíticas) foram maiores para o grupo TG3 (tabela 4).

Martins (2007) realizou um estudo com diferentes concentrações de óleo de soja, e conclui que o óleo não influencia na frequência dos diferentes tipos de fibra do músculo glúteo de equinos. Segundo este autor, nem a dieta nem o treinamento alteraram a área de secção transversal de nenhum tipo de fibras. Já Tyler et al. (1998), observaram hipertrofia dos três tipos de fibras em resposta ao treinamento de alta intensidade.

Algumas pesquisas sugerem que o gama-orizanol pode aumentar a liberação de endorfinas e auxiliar no desenvolvimento muscular (BONNER et al., 1990) e estes achados tem criado um interesse pelo uso do gama-orizanol com um suplemento esportivo (PATEL; NAIK, 2004).

Nosso estudo mostra relevância por buscar relacionar a influência de um treinamento intervalado de moderada intensidade com a suplementação de óleo de farelo de arroz rico em gama-orizanol. Além disso, este estudo retoma a discussão da necessidade de pesquisas que possam esclarecer os mecanismos pelos os quais esta substância pode afetar o metabolismo muscular e modificar parâmetros morfofuncionais.

## 7 CONCLUSÃO

---

---

O exercício físico realizado por meio da esteira rolante e a suplementação de óleo de farelo de arroz rico em gama-orizanol (OFA) induziram mudanças morfométricas no tecido adiposo e no tecido muscular. Porém, na adiposidade esta redução foi independente do treinamento intervalado, enquanto que nas fibras musculares a associação da suplementação de OFA e treinamento intervalado modificou as fibras do músculo gastrocnêmio sendo as fibras IIb mais responsivas aos protocolos adotados neste estudo.

As mudanças funcionais foram mais pronunciadas no metabolismo lipídico do que glicídico. No perfil plasmático das lípides, embora as respostas para LDL-C e triglicerídeos tenham sido positivas, houve também redução nos níveis de HDL-C o que para animais normocolesterolinêmicos pode representar um prejuízo no metabolismo lipídico. As reservas de carboidratos, analisadas pelo glicogênio muscular, foram ampliadas apenas para os animais que receberam o OFA na maior concentração (0,6 mL). Portanto, em nosso estudo encontramos que a dosagem de 0,3 mL foi o melhor resultado na maioria dos dados aqui pesquisados.

Esse estudo se mostra um diferencial por utilizar o treinamento de moderada intensidade e alcançar resultados positivos importantes na prática clínica, onde indivíduos com alta taxa de LDL, triglicerídeos e colesterol total associados a patologias, no qual são impedidos de praticar atividades físicas mais intensas, poderão utilizar desse treino de moderada intensidade e obter resultados satisfatórios.

De modo geral, a associação entre o treinamento intervalado moderado e suplementação de OFA sinalizam para uma resposta ergogênica positiva, mas são necessários mais estudos ampliando as investigações a níveis moleculares.

# REFERÊNCIAS

---

---

ABDULHAMID, A.; LUAN, Y.S. Functional properties of dietary fiber prepared from defatted rice bran. **Food Chem**, 68(1):15-19, 2000.

AHIMA, R.S.; FLIER, J.S. Adipose tissue as an endocrine organ. **Trends Endocrinol.**, 8:327-332, 2000.

AHLBORG, G.; FELI, G.P. Lactate and glucose exchange across the forearms, legs, and splanchnic bed during and after prolonged leg exercise. **J. Clin. Invest.**, 69: 45-54, 1982.

AMATO, G.W. **Farelo do Arroz: uma nova visão**. Porto Alegre: Centro de Excelência do arroz - IRGA, 2006. Disponível em: [http://www.irga.rs.gov.br/index.php?action=artigo\\_detalhe&id=28](http://www.irga.rs.gov.br/index.php?action=artigo_detalhe&id=28). Acesso em: 15 set. de 2006.

ANDREAZZI, M. A.; REDIVO, A. G. S.; HERNANDES, F. C.; JUNIOR, G. M. A. Avaliação dos níveis séricos de testosterona em coelhos NZB alimentados com dietas contendo diferentes fonte de óleo vegetal. **Cesumar**, 4(2): 143-148, 2002.

AOKI, M.S.; BELMONTE, M;A.; SEELAENDER. Influencia da suplementação lipídica sobre a indução do efeito poupador de glicogênio em ratos submetidos ao exercício de "endurance". **Rev. Paul. Educ. Fís.**, 17(2): 93-103, 2003.

ARLAS,T.R. Efeito da suplementação alimentar de garanhões com óleo de arroz contendo gamma-oryzanol na qualidade espermática. **UFRGS**, 2008.

AUDET, I.; LAFOREST, J. P.; MARTINEAU, G. P.; MATTE, J. J. Effect of vitamin supplements on some spectrs of performance, vitamin status, and semen quality in boars. **J. Anim. Sci.**, 82: 626-633, 2004.

ÁVILA, R. I. Óleo na dieta dos cavalos. **Técnicas & Veterinária**, 2007. Disponível em:<<http://www.endurancebrasil.com.br>>. Acesso em: 9 fev. 2007.

BACH, A. D.; BEIER, J.P.; STERN-STAETER, J.; HORCH, R.E. Skeletal muscle tissue engineering. **J. Cell. Mol. Med.**, 8 (4): 413-422, 2004.

BARNETT, C.; CAREY, M.; PROIETTO, J.; CERIN, E.; FEBBRAIO, M.A.; JENKINS, D. Muscle metabolism during sprint exercise in man: influence of sprint training. **J. Sci. Med. Sport**, 7(3):314-322, 2004.

BARSTOW, T.J.; JONES, A.M.; NGUYEN, P.H.; CASABURI, R. Influence of muscle fiber type and pedal frequency on oxygen uptake kinetics of heavy exercise. **J. Appl. Physiol.**, 81(4):1642-1650, 1996.

BELTMAN, J. G.; SARGEANT, A.J.; VAN MECHELEN, W; DE HAAN, A. Voluntary activation level and muscle fiber recruitment of human quadriceps during lengthening contractions. **J. Appl. Physiol.**, 97 (2): 619-626, 2004.

BENEKE, R. Methodological aspects of maximal lactate steady state-implications for performance testing. **Eur. J Appl Physiol**, 89:95-99, 2003.

BENEKE, R.; LEITHAUSER, R.; HUTLER, M. Dependence of the maximal lactate steady state on the motor pattern of exercise. **Brit J Sports Med**, 35:192-196, 2001.

BERGSTROM, J.; HERMANSEN, L.; HULTMAN, E.; SALTIN, B. Diet, muscle glycogen and physical performance. **Acta Physiol. Scandinavica**, 71:140-150, 1967.

BERNARDI, D. S. Desenvolvimento de nanoemulsão de óleo de arroz como adjuvante no tratamento de dermatite atópica e psoríase. **USP**, 2011.

BERTOLAZZI, C. **Prova dos 3 tambores**. Disponível em: <http://www.itu.com.br>. 2007.

BHASIN, S.; STORER, T.W. The effects of supraphysiologic doses of testosterone on muscle size and strength in normal men. **Engl J Med**; 335:1-7, 1996.

BILLAT, V.L. Interval training for performance: a scientific and empirical practice: special recommendations for middle and long-distance running. Part I: aerobic interval training. **Sports Medicine**, 31(1): 13-31, 2001.

BILLAT, V.L.; SIVERENT, P.; PY, G.; KORALLSZTEIN, J-P.; MERCIER, J. The concept of maximal lactate steady state: a bridge between biochemistry, physiology and sport science. **Sports Med**, .33(6):407-26, 2003.

BLEMKER, S.S.; DELP, S.L. Three dimensional representation of complex muscle architectures and geometries. **Ann. Biomed. Eng.**, 33(5):661-673, 2005.

BONIFAZI, M.; BELA, E.; CARLI, G.; LODI, G.; MARTELLI, G.; ZHU, B; LUPO, C. Influence of training on the response to exercise of adrenocorticotropin and growth hormone plasma concentrations in human swimmers. **Eur J Appl Physiol.**, 78:394–397, 1998.

BONNER B, WARREN B & BUCCI L. Influence of ferulate supplementation on postexercise stress hormone levels after repeated exercise stress. **J Appl Sports Sci Res**, 4:10, 1990.

BRUNI, J. Gamma oryzanol: The facts. New York: **New York University**, 1988.

BUCCI, L. A natural magic bullet? **Flex February**, 52 – 56, 1989.

BURGOMASTER, K.A.; HOWARTH, K.R.; PHILLIPS, S.M.; RAKOBOWCHUK, M.; MACDONALD, M.J.; McGEE, SL.; GIBALA, M.J. Similar metabolic adaptations during exercise after low volume sprint interval and traditional endurance training in humans. **J Physiol**, 586(1):151-60, 2008.



CAIOZZO, V.J.; HADDAD, F.; BAKER, M.; McCUE, S.; BALDWIN, K.M. MHC polymorphism in rodent plantaris muscle: effects of mechanical overload and hypothyroidism. **Am. J. Physiol. Cell. Physiol.**, 278(4): C709-C717, 2000.

CAMARGO FILHO, J.C.S.; VANDERLEI, L.C.M.; CAMARGO, R.C.T.; FRANCISCHETI, F.A.; BELANGERO, W.D.; PAI, V.D. Effects of the anabolic steroid nandrolone on the soleum muscle of rats submitted to physical training through swimming: histological, histochemical and morphometrical study. **Rev. Bras. Med. Esporte**, 12(5):28-222, 2006.

CAMARGO FILHO, J.C.S.; VANDERLEI, L.C.M.; CAMARGO, R.C.T.; OLIVEIRA, D.A.R.; OLIVEIRA JUNIOR, S.A.; PAI, V.D.; BELANGERO, W.D. Análise histológica, histoquímica e morfométricas do músculo sóleo de ratos submetidos a treinamento físico em esteira rolante. **Arq. Ciênc. Saúde**, 12(3): 196-199, 2005.

CAMPOS, G.E.R.; LUECKE, T.; WENDELN, H.K.; TOMA, K.; HAGERMAN, F.C.; MURRAY, T.F.; RAGG, K.E.; RATAMES, N.A.; KRAEMER, W.J.; STARON, R.S. Muscular adaptations in response to three different resistance training regimens: specificity of repetition maximum training zones. **Eur J Appl Physiol.**, 88: 50-60, 2002.

CANALI, E. S; KRUEL, L. F. M. Respostas Hormonais ao Exercício. **Rev. Paul. Educ. Fís.**, 15(2):141-53, 2001.

CANEPARI, M; ROSSI, R.; PELLEGRINO, M.A.; ORRELL, R.W.; COBBOLD, M.; HARRIDGE, S.; BOTTINELLI, R. Effects of resistance training on myosin function studied by the in vitro motility assay in young and older men. **J. Appl. Physiol.**, 98(6): 2390-2395, 2005.

CANNON, B.; NEDERGAARD, J. Brown adipose tissue: function and physiological significance. **Physiol. Rev.**, 84:277-359, 2004.

CARROLL, C.C.; CARRITHERS, J.A.; TRAPPE, T.A. Contractil protein concentrations in human single muscle fibres. **J. Muscle Res. Cell. Motil.**, 25(1):55-59, 2004.

CARROLL, C.C.; GALLAGHER, P. M.; SEIDLE, M.E.; TRAPPE, S.W. Skeletal muscle characteristics of people with multiple sclerosis. **Arch. Phys. Med. Rehabil.**; 86(2):224-229, 2005.

CHASSAIN, A. Méthode d'appréciation objective de la tolérance de l'organisme à l'effort: application à la mesure des puissances de la fréquence cardiaque et de la lactatémie. **Sci Sports**, 1:41-8, 1986.

CHENG, H.H.; MA, C.Y.; CHOU, T.W.; CHEN, Y.Y.; LAI, M.H. Gamma-oryzanol ameliorates insulin resistance and hyperlipidemia in rats with streptozotocin/nicotinamide-induced type 2 diabetes. **Int. J. Vitam. Nutr. Res.**, 80(1):45-53, 2010.

CHOU, T.W.; MA, C.Y.; CHENG, H.H.; CHEN, Y.Y.; LAI, M.H. A rice bran oil diet improves lipid abnormalities and suppress hyperinsulinemic responses in rat with streptozotocin/nicotinamide-induced type 2 diabetes. **J Clin Biochem Nutr**, 45: 29-

36, 2009.

CHRISTOPHER, G.R.; PERRY, G.J.F.; HEIGENHAUSER, A.B.; LAWRENCE, L. High-intensity aerobic interval training increases fat and carbohydrate metabolic capacities in human skeletal muscle. **Appl. Physiol. Nutr. Metab.**, 33: 1112–1123, 2008.

CICERO, A. F. G.; GADDI, A. Rice Bran Oil and Gamma-Oryzanol in the Treatment of Hyperlipoproteinaemias and Other Conditions. **Phytot. Res.** 15: 277 – 289; 2001.

CINTI, S. The adipose organ. **Prostaglandin Leukot Essent Fatty Acids**, 73(1):9-15, 2005.

COSTA, V.J; DUARTE, J.S. Tecido Adiposo e Adipocinas. **Acta Med. Port.**, 19:251-256, 2006.

COUTINHO, M.H.P. Predição da composição de fibras musculares: um instrumento não invasivo para treinadores. **Universidad De La Habana**, 2002.

CRISAN, M.; CASTEILLA, L.; LEHR, L.; CARMONA, M.; PAOLONI-GIACOBINO, A.; YAP, S.; SUN, B.; LÉGER, B.; LOGAR, A.; PÉNICAUD, L.; SCHRAUWEN, P.; CAMERON-SMITH, D.; RUSSELL, A.P.; PÉAULT, B.; GIACOBINO, J.P. A reservoir of brown adipocyte progenitors in human skeletal muscle. **Stem Cells**, 26(9):2425-33, 2008.

D'ANGELIS, F.H.F. Avaliação do efeito da suplementação prolongada com creatinina sobre músculos estriados esqueléticos de equinos em treinamento aeróbio. **UNESP**, 2004.

DA SILVA, R.L.; BRENTANO, M.A.; KRUEL, L.F.M. Effects of Different Strength Training Methods on Postexercise Energetic Expenditure. **J. Strength Cond. Res.**, 24(8):2255-2260, 2010.

DAMASCENO, V.O.; LIMA, J.R.P.; VIANA, J.M.; VIANA, V.R.A.; NOVAES, J.S. Tipo físico ideal e satisfação com a imagem corporal de praticantes de caminhada. **Rev. Bras. Med. Esporte**, 11(3):181-186, 2005.

DAVISON, K.E.; POTTER, G.D.; EVANS, J.W.; GREENE, L.W.; HARGIS, P.S.; CORN, C.D.; WEBB, S.P. Growth, nutrient utilization, radiographic bone characteristics and postprandial thyroid hormone concentrations in weanling horses fed added dietary fat. **Equi Veter Sci.**, 11(2): 119-125, 1991.

DEMIREL, H.A.; POWERS, S.K.; NAITO, H.; HUGHES, M.; COOMBES, J.S. Exercise-induced alterations in skeletal muscle myosin heavy chain phenotype: dose-response relationship. **J. Appl. Physiol.**, 86(3): 1002-1008, 1999.

DESCHENES, M.R. Effects of aging on muscle fibre type and size. **Sports Med.**, 34(12):809-824, 2004.

DICKER, A.; RYDÉN, M.; NÄSLUND, E.; MUEHLEN, I.E.; WIRÉN, M.; LAFONTAN, M.; ARNER, P. Effect of testosterone on lipolysis in human pre-adipocytes from

different fat depots. **Diabetologia**, 47:420-428, 2004.

DONNELLY, J.E.; JACOBSEN, D.J.; HEELAN, K.S.; SEIP, R.; SMITH, S. The effects of 18 months of intermittent vs continuous exercise on aerobic capacity, body weight and composition, and metabolic fitness in previously sedentary, moderately obese females. **Inter J Obes**, 24(5):566-56, 2000.

DUNNETT, C.E.; MARLIN, D.J.; HARRIS, H.C. Effect of dietary lipid on response to exercise: relationship to metabolic adaptation. **Equine Vet. J. Suppl.**, 34:75-80, 2002.

EDER, R. O exercício intermitente modula o metabolismo lipídico em ratos: o fígado como órgão gerenciador. **USP**, 2009.

ENERBÄCK, S. The origins of brown adipose tissue. **N. Engl. J. Med.**, 360(19):2021–2023, 2009.

FAN J.G.; FARRELL, G.C.; VAT fat is bad for the liver, SAT fat is not! **J. Gastrol. Hepatol.**, 23:823-832, 2008.

FANG, N.; YU, S.; BADGER, T.M. Characterization of triterpene alcohol and sterol ferulates in rice bran using LC-MS/MS. **J Agric. Food Chem**, 51: 3260-3267, 2003.

FERMO, R.S.; REGO, J.N.I.; FRANQUINI, J.V.M.; ANDRADE, T.U. Efeito da suplementação alimentar sobre ação anabólica do decanoato de nandrolona em ratos. **Rev Eletron Farm**, 5(1):111-121, 2008

FERREIRA, A.D. Análise fenotípica do músculo semitendinoso de ratos wistar e os efeitos do treinamento intervalado sobre suas fibras musculares. **Universidade Estadual de Campinas**, 2004.

FIAMONCINI, R.L. Avaliação do estresse oxidativo em jogadores juniores de futebol: comparação entre exercício aeróbio e anaeróbio. **Dissertação de Mestrado**, Universidade Federal de Santa Catarina, 2002.

FONSECA-ALANIZ, M. H.; TAKADA, J.; ALONSO-VALE, M. I. C.; et al. O tecido adiposo marrom como centro regulador do metabolismo. **Arq. Bras. End. Metab.**, 50(2): 216-227, 2006.

FRANK, N.; ANDREWS, F.M.; ELLIOTT, S.B.; LEW, J.; BOSTON, R.C. Effects of rice bran oil on plasma lipid concentrations, lipoprotein composition, and glucose dynamics in mares. **J. Anim. Sci.**, 83:2509-2518, 2005.

FRIEDMAN, J.E.; FERRARA, C.M.; AULAK, K.S.; HATZOGLOU, M.; McCUNE, S.A.; PARK, S., SHERMAN, W.M.. Exercise training down-regulates ob gene expression in the genetically obese SHHF/ Mcc-facp rat. **Horm. Metab. Res.**, 29(5):214-219, 1997.

FRIEDMANN, B.; KINSCHERF, R.; VORWALD, S.; MULLER, H.; KUCERA, K.; BORISCH, S.; RICHTER, G.; BARTSCH, O.; BILLETER, R. Muscular adaptations to computer-guided strength training with eccentric overload. **Acta Physiol. Scand.**

182(1):77-88, 2004.

FRY, A.C. The role of resistance exercise intensity on muscle fibre adaptations. **Sports Med.**, 34(10):663-679, 2004.

FRY, A.C.; BONNER, E.; LEWIS, D.L.; JHONSON, R.L.; STONE, M.H.; KRAEMER, W.J.; The effects of gamma-oryzanol supplementation during resistance exercise training. **Int. J. Sport Nutr.**, 7: 318- 329; 1997.

GANSEN, S.; LINDNER, A.; MARX, S.; MOSEN, H.; SALLMANN, H. P. Effects of conditioning horses with lactate-guided exercise on muscle glycogen content. **Equine Vet. J.**, 30:329-331, 1999.

GARCIA, P.R.; LEMOS, K.M. A estética como um valor na educação física. **Revista Paulista de Educação Física**, 17(1):32-40, 2003.

GARLAND, S.W. NEWHAM, D.J.; TURNER, D.L. The amplitude of the slow component of oxygen uptake is related to muscle contractile properties. **Eur. J. Appl. Physiol.**, 91(2-3): 192-198, 2004.

GAUTHIER, M.S.; COUTURIER, K.; LATOUR, J.G.; LAVOIE, J.M. Concurrent exercise prevents high-fat-diet-induced macrovesicular hepatic steatosis. **J. Appl. Physiol.**, 94(6):2127-2134, 2003.

GEELLEN, S.N.J. High fat intake and equine lipid metabolism. **Universiteit Utrecht**, 2001.

GERDLE, B. KARLSSON, S.; CRENSHAW, A. G.; ELERT, J.; FRIDEN, J. The influences of muscle fibre proportions and areas upon EMG during maximal dynamic knee extensions. **Eur. J. Appl. Physiol.**, 81: 2-10, 2000.

GERHARDT, A.L.; GALLO, N.B. Full fat rice bran and oat bran similarly reduced Hypercholesterolemia in humans. **J Nutr**, 128: 865-869. 1998.

GERTZ, C.; KLOSTERMANN, S.; KOCHHAR, S. P. Testing and comparing oxidative stability of vegetable oils and fats at frying temperature. **Eur J of Lipid Sci and Tech**, 102(8-9): 543–551, 2000.

GESTA, S.; TSENG, Y.H.; KAHN, C.R. Developmental origin of fat: tracking obesity to its source. **Cell**, 131(2):242–56, 2007.

GIBALA, M.J.; MCGEE, S. L.; GARNHAM, A.P.; HOWLETT, K.F.; SNOW, R.J.; HARGREAVES, M. Brief intense interval exercise activates AMPK and p38 MAPK signaling and increases the expression of PGC-1<sub>α</sub> in human skeletal muscle. **J. Appl. Physiol.**, 106: 929–934, 2009.

GIORGINO, F.; LAVIOLA, L.; ERIKSSON, J.W. Regional differences of insulin action in adipose tissue: insights from in vivo and in vitro studies. **Acta Physiol. Scand.**, 183(1):13-30, 2005.

GOBATTO, C.A.; MELLO, M.A.R.; MANCHADO-GOBATTO, F.B.; PAPOTI, M.; VOLTARELLI, F.A.; CONTARTEZE, R.V.L.; ARAUJO, G.G. Aplicações ao

treinamento em diferentes modelos experimentais. **Rev. Mackenzie de Ed. Fís. Esp.** 7(1):137-147, 2008.

GOBESSO, A. A. O. Efeito da suplementação com óleo de arroz semi-refinado rico em gama-oryzanol sobre o escore corporal, ganho de peso, digestibilidade da dieta, qualidade espermática, nível plasmático de testosterona de garanhões. Pirassununga, **USP**, 2006.

GOBESSO, A. A.O.; GONZAGA, I. V. F., et al. Efeito da suplementação com óleo de arroz semi-refinado rico em gama-oryzanol sobre o escore corporal, ganho de peso e digestibilidade da dieta de garanhões. **44ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, Unesp-Jaboticabal, 2007.

GONG-YUANSSHENG, Y.; YAO-HUIYUAN, H. Purification and identification of gamma-oryzanol from rice bran. **J of the Chin Cer and Oils Assoc**, 16: 30-34, 2001.

GONZAGA, I. V. F.; PASTORI, W.T.; GOBESSO, A. A. O. ; ÁVILA, R. L. Efeito da suplementação com óleo de arroz semi refinado rico em gamaoryzanol sobre o escore corporal, ganho de peso e digestibilidade da dieta de garanhões. **In: II Simposio de Pos-Graduacao & XV Semana Científica, 2006, São Paulo. Anais do II Simpósio de Pós Graduação da Faculdade de Medicina Veterinária e zootecnia da Universidade de São Paulo**, 2006.

GONZAGA, I.V.F. Suplementação com óleo de arroz semi-refinado com alto teor de gama-orizanol na dieta de garanhões. **USP**, 2008.

GOSWAMI, A.; SADHUKHAN, A.K.; GUPTA,S. EMG characteristics and fibre composition: study on rectus femoris of sprinters and long distance runners. **Indian J. Physiol. Pharmacol.**, 45(4):497-501, 2001.

GRUNDY S. M. MOK H. Y. I. Determination of cholesterol absorption in man. **J Lipid Res**, 18: 263 – 71, 1977.

GURD, B. J; PERRY,C.G.R. High-Intensity Interval Training Increases SIRT-1 Activity in human Skeletal Muscle. **Appl.Physiol.Nutr.Metab.**, 35: 350-357, 2010.

GUYTON, A.C.; HALL, J.E. **Fisiologia Humana e Mecanismos das Doencas**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. 973p.

HA, T.Y.; HAN, S.; KIM, S.R.; KIM, I.H.; LEE, H.Y.; KIM, H.K. Bioactive components in rice bran oil improve lipid profiles in rats fed a high-cholesterol diet. **Nutr Res**, 25: 597-606, 2005.

HALL, S. **Biomechanica Básica**. Rio de janeiro: Guanabara Koogan, 2000. 528p.

HALLEBEEK, J.M.; BEYNEN, A.C. The plasma level of triacylglycerols in horses fed high-fat diets containing either soybean oil or palm oil. **J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.**, 86:111-116, 2002.

HAMBLETON, P.K.; SLADER, L.D.; HAMAR, D.W.; KIENHOLZ, E.W.; LEWIS, L.D. Dietary fat and exercise conditioning effect on metabolic parameters in the horse. **J.**

**Anim. Sci.** 51(6):1330-1339, 1990.

HANSEN, A.K.; FISCHER, C.P.; PLOMGAARD, P.; ANDERSEN, J.L.; SALTIN, B.; PEDERSEN, B.K. Skeletal muscle adaptation: training twice every second day vs. training once daily. **J. Appl. Physiol.**, 98(1):93-99, 2005.

HARBER, M.P.; GALLAGHER, P.M.; CREER, A.R.; MINCHEV, K.M.; TRAPPE, S.W. Single muscle fiber contractile properties during a competitive season in male runners. **Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.**, 287(5):1124-1131, 2004.

HATAMOTO, L. K.; SOBRINHO, C. A. B.; NICHI, M.; BERNABE, V. H.; BERNABE, R. C.; CORTADA, C. N. M. Effects of dexamethasone treatment (to mimic stress) and Vitamin E oral supplementation on the spermogram and on seminal plasma spontaneous lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities in dogs. **Theriogenology**, 66:1610–1614, 2006.

HAUPT, H.A.; ROVERE, G.D. Anabolic steroids: a review of the literature. **Am J Sports Med.**, 12:469-484, 1984.

HECK, H.; MADER, A.; HESS, G.; MÜCKE, S.; MÜLLER, R.; HOLLMANN, W. Justification of the 4-mmol/L lactate threshold. **Inter J Sports Med**, 6:117-130, 1985.

HEINEMANN T., LEISS O., von BERGMANN K. Effect off low dose sitostanol on serum cholesterol in patients with hypercholesterolemia. **Atherosclerosis**, 61: 219 – 23; 1986.

HELGE, J.W.; AYRE, K.; CHAUNCHAIYAKUL, S. HULBERT, A.J.; KIENS, B.; STORLIEN, L.H. Endurance in high fat fed rats: effect of carbohydrate content and fatty acid profile. **J. Appl. Physiol.**,85(4):1342-8, 1998.

HUANG, D. J.; OU, B. X.; HAMPSCH-WOODILL, M.; FLANAGAN, J. A.; DEEMER, E. K. Development and validationn of oxygen radical absorbance capacity assay for lipophilic antioxidants using randomly methylated beta-cyclodextrin as the solubility enhancer. **J of Agric and Food Chem**, 50 (7): 1815–1821, 2002.

HUNTER, G.R.; WEINSIER, R.L.; BAMMAN, M.M.; LARSON, D.E. A role for hight intensity exercise on energy balance and weight control. **Int. J. Obesity & Rel. Metabol. Disorders**, 6: 489-93, 1998.

HUSOM, A.D.; FERRINGTON, D.A.; THOMPSON, L.V. Age-related differences in the adaptive potential of type I skeletal muscle fibres. **Exp. Gerontol.**, 40(3):227-235, 2005.

IEIRI, T.; KASE, N.; HASHIGAMI, Y.; KOBORI, H.; NAKAMURA, T.; SHIMODA, S. Effects of gamma-oryzanol on the hipothalamo-pituitary axia in the rat. **Nippon Naibunpi Gakkai Zasshi**, 58(20): 1350-1356; 1982.

INBAR, O.; KAISER, P.; TESCH, P. Relationships between leg muscle fiber type distribution and leg exercise performance. **Int. J. Sports Med.**, 2(3):154-159, 1981.

ISHIHARA M, ITO Y, NAKAKITA T, MAEHAMA T, HIEDA S, YAMAMOTO K & UENO N. Clinical effect of gamma-oryzanol on climacteric disturbance on sérum

lipid peroxides. **Nippon Sanka Fujinka Gakkai Zasshi**, 34: 243-251, 1982

ISMAIL, M.; AL-NAQUEEB, G.; MANAT, W.A.A.; AHMAD, Z. Gamma-oryzanol rich fraction regulates the expression of antioxidant and oxidative stress related genes in stressed rat's liver. **Nutr. Metab.**, 7:23, 2010.

JACOBS, I. Blood lactate: implications for training and sports performance. **Sports Medicine**, 3:10-25, 1986.

JULIANO, C.; COSSU, M.; ALAMANNI, M. C.; PIU, L. Antioxidant activity of gammaoryzanol: Mechanism of action and its effect on oxidative stability of pharmaceutical oils. **Int. J. Pharm.** 299: 146 – 154; 2005.

JUNQUEIRA, L.C.U.; CARNEIRO, J. **Histologia Básica**. 11<sup>a</sup> ed. Rio de Janeiro:Guanabara Koogan, 2008. 524 p

KARAKELIDES, H.; SREEKUMARAN NAIR, K. Sarcopenia of aging and its metabolic impact. **Curr. Top. Dev. Biol.**, 68;123-148, 2005.

KELLER, H.; BAR-OR, O.; KRIEMLER, S.; AYUB, B.V.; SAIGAL, S. Anaerobic performance in 5- to 7- yr-old children of low birthweight. **Med. Sci. Sports Exerc.**, 32(2):278-283, 2000.

KERCKHOFFS, D.A.J.M.; MENSINK, R.P.; BRUIN, R. P. de; TRAUTWEIN, E.A.; BROUNS, F.; HORNSTRA, G.I. Tocotrienols from rice bran oil have no effects on levels of LDL cholesterol and markers for cholesterol synthesis and absorption. **Ather**, 151 (1): 114-114; 2000.

KIM, H.; LEE, S.; PARK, K.; HONG, I. Characterization of extraction and separation of rice bran oil in EFA using SFE process. **Sep Purif Technol**, 5: 1-5, 1999.

KIM, J.S.; GODBER, J.S.; KING, J.; PRIYAWIWATKUL, W. Inhibition of cholesterol autoxidation by the nonsaponifiable fraction in rice bran in an aqueous model system. **J of Amer Oil Chem' Soc**, 78; 685-689, 2001.

KINDERMANN, W.; SIMON, G.; KEUL, J. The significance of the aerobic-anaerobic transition for the determination of work load intensities during endurance training. **Eur J Appl Physiol**, 42:25-34, 1979.

KNIGHT, C.A.; KAMEN, G. Superficial motor units are larger than deeper motor units in human vastus lateralis muscle. **Muscle Nerve**, 31(4):475-489, 2005.

KOMI, P.V.; RUSKO, H.; VOS, J.; VIHKO, V. Anaerobic performance capacity in athletes. **Acta Physiol. Scand.**, 100(1):107-114, 1977.

KRIVICKAS, L.S.; ANSVED, T.; SUH, D.; FRONTEIRA, W.R. Contratil properties of single muscle fibers in myotonic dystrophy. **Muscle Nerve**, 23(4):529-537, 2000.

LAFONTAN, M.; BERLAN, M. Do regional differences in adipocyte biology provide new pathophysiological insights? **Trends Pharmacol. Sci.**, 24:276-283, 2003.

LAING, N.G.; CLARKE, N.F.; DYE, D.E.; LIYANA, G.E.K.; WALKER, K.R.;

KOBAYASHI, Y.; SHIMAKAWA, S.; HAGIWARA, T.; OUVRIER, R.; SPARROW, J.C.; NISHINO, I.; NORTH, K.N.; NONAKA, I. Actin mutations are one cause of congenital fibre type disproportion. **Ann. Neurol.**, 56(5):689-694, 2004.

LARSSON, B.; BJORK, J.; ELERT, J.; LINDMAN, R.; GERDLE, B. Fibre type proportion and fibre size in trapezius muscle biopsies from cleaners with and without myalgia and its correlation with ragged red fibres, cytochrome-c-oxidase-negative fibres, biomechanical output, perception of fatigue, and, surface electromyography during repetitive forward flexions. **Eur. J. Appl. Physiol.**, 84(6):492-502, 2001.

LEES A.M., MOK. H.Y.I., LEES R.S., MCCLUSKEY M.A. Plant sterols as cholesterol-lowering agents: clinical trials in patients with hypercholesterolemia and studies of sterol balance. **Atherosclerosis**. 28: 325 – 38; 1977.

LEVIN, B.E.; DUNN-MEYNELL, A.A. Chronic exercise lowers the defended body weight gain and adiposity in diet-induced obese rats. **Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.**, 286:771-778, 2004.

LICHTENBELT, V.M.; WOUTER, D.; HARTGENS, F.; VOLLAARD, N.B.J.; EBBING, S.; KUIPERS, H. Bodybuilders' body composition: effect of nandrolone decanoate. **Med Sci Sports Exerc.**, 36(3):484-489, 2004.

LICHTENSTEIN, A.H.; AUSMAN, L.M.; CARRASCO, W.; GUALTIERI, L.J.; JENNER, J.L.; ORDOVAS, J.M. NICOLOSI, R.J.; GOLDIN, B.R.; SCHAEFER, E.J. Rice bran oil consumption and plasma lipid levels in moderately hypercholesterolemic humans. **Atheroscler. Thromb.**, 14: 549-556, 1994.

LINDSTEDT, S.L.; KAMEN, G. Superficial motor units are larger than deeper motor units in human vastus lateralis muscle. **Muscle Nerve**, 31(4):475-480, 2005.

LINDSTEDT, S.L.; MCGLOTHLIN, T.; PERCY, E.; PIFER, J. Task-specific design of skeletal muscle: balancing muscle structural composition. **Comp. Biochem. Physiol. B. Biochem. Mol. Biol.**, 120(1):35-40, 1998.

LITHEL, H.; SCHELE, R.; VESSBY, B.; JACOB, I. Lipoproteins, lipoprotein lipase, and glycogen after prolonged physical activity. **J. Appl. Physiol.**, 53:698-702, 1984.

MANOSROI, A.; CHUTOPRAPAT, R.; SATO, Y.; MIYAMOTO, K.; HSUEH, K.; ABE, M.; MONOSROI, W.; MANOSROI, J. Antioxidant activities and skin hydration effects of rice bran bioactive compounds entrapped in niosomes. **J. Nanosci. Nanotechnol.**, 11(3):2269-77, 2011.

MARTINS, C.B. Adaptações do músculo glúteo médio em equinos submetidos a treinamento de resistência e suplementados com diferentes concentrações de óleo de soja. **UNESP**, 2007.

McCANN, J.S.; MEACHAM, T.N.; FONTENOT, J.P. Energy utilization and blood traits of ponies fed fat-supplemented diets. **J. Anim. Sci.**, 65(4):1019-1026, 1987.

McCASKILL, D.R.; ZHANG, F. Use of rice bran oil in foods. **Food Technology**, 53(2) :50-53, 1999.



MICHAEL, J.; RENNIE; W.W.; WINDER; J., HOLLOSZY, A. A Sparing Effect of Increased Plasma Fatty Acids on Muscle and Liver Glycogen. **Exerc. Rat. Biochem. J.**, 156: 647-655, 1976.

MICHEL, R.N.; DUNN, S.E.; CHIN, E.R. Calcineurin and skeletal muscle growth. **Proc. Nutr. Soc.**, 63(2):341-349, 2004.

MINER, J.L. The adipocyte as an endocrine cell. **J. Anim. Sci.**, 82:935-941, 2004.

MITSUISHI, M.; MIYASHITA, K.; ITOH, H. Metabolic syndrome. **Nippon Rinsho**, 67:321-326, 2009.

MOLINE S.W.; GLENNER G.G. Ultra rapid tissue freezing in liquid nitrogen. **J Histchem Cytochem**, 12: 777-778; 1964.

MONOD, H.; SCHERER J. The work capacity of a synergic muscular group. **Ergonomics**, 8:329-338, 1965.

MORIKAWA, A. T. Influência dos esteróides anabólicos androgênicos em aspectos do metabolismo de quilomicrons. **USP**, 2007.

MORIYAMA N, SHINOZAKI T, KANAYAMA K & YAMOTI S. Development of the processeing rice wich added new functionality **Nippon-Nogeikagaku-Kaishi**, 76:614-620, 2002.

MURASE, Y.; IISHIMA, H. Clinical studies of oral administration of gamma-orizanol on climacteric complains and its syndrome. **Obstet Gynecol Prac**, 12: 147-149, 1963.

MUTUNGI, G.; RANATUNGA, K.W. Sarcomere length changes during end-held (isometric) contractions in intact mammalian (rat) fast and slow muscle fibres. **J. Muscle Res. Cell. Motil.**, 21(6):565-575, 2000.

NAGASAKA, R.; YAMSAKI, T.; UCHIDA, A.; OHARA, K.; USHIO, H.  $\gamma$ - Orizanol recovers mouse hypoadiponectinemia induced by animal fat ingestion. **Phytomedicine**, 18(8-9):669-671, 2011.

NEGRÃO, C. E.; MOREIRA, E. D.. SANTOS, M. C. L. M.; FARAH, V. H. M.; KRIEGGER, E. M. Vagal Function impairment after exercise training. **Jour. Appl. Phy.**, 12: 1749-1753, 1992.

NEGRÃO, C.E.; MOREIRA, E.D.; BRUM, P.C.; DENADAI, M.L.D.R.; KRIEGER, E.M. Vagal and sympathetic controls of the heart rate during exercise in sedentary and trained rats. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, 25: 1045-52, 1992.

NICOLOSI, R.J.; AUSMAN, L.M.; HEGSTED, D.M. Rice bran oil lowers serum total and low density lipoprotein cholesterol and Apo B levels in nonhuman primates. **Artherosclerosis**, 88: 133-142, 1991.

NORRIBON, J.; SUNDENBERG, C.J.; AMELN, H. PGC-1alfa mRNA expression is influenced by metabolic perturbation in exercising human skeletal muscle. **J. Appl.**

**Physiol.**, 96: 189–194, 2004

NYSTRÖM, L.; MÄKINEN, M.; LAMPI, A.; PIIRONEN, V. Antioxidant activity of steryl ferulate extracts from rye and wheat bran. **J of Agric and Food Chem**, 53 (7):2503–2510, 2005.

OHARA, K.; UCHIDA, A.; NAGASAKA, R.; USHIO, H.; OHSHIMA, T. The effects of hydroxycinnamic acid derivatives on adiponectin secretion. **Phytomedicine**, 16:130–137, 2009.

OLIVEIRA, D. S.; AMADO, C. A. B.; MARTINI, M. C.; SUZUKI-KEMMELMEIER, F. and Bracht, A. Glycogen levels and energy status of the liver of fasting rats with diabetes types 1 and 2. **Braz. Arch. Biol. Technol.**, 50, 785-79, 2007.

OLIVEIRA, R.N.; MARQUES, A.P.; XAVIER, P.R.; ALVES, G.E.S.; PAES, P.R.O.; GOBESSO, A.A.O. Avaliação hematológica e bioquímica de equinos suplementados com óleo de arroz semirrefinado, rico em gamaorizanol. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, 62(5):1043-1047, 2010.

PATEL, M.; NAIK, S. N. Gamma-oryzanol from rice bran oil – a review. **J.Sci Ind. Res.**,63: 569-578, 2004.

PEARSE, A.G.E. Histochemistry: theoretical and applied. 3<sup>a</sup> ed. Baltimore: **Williams & Wilkins**, 921-961, 1972.

PEDERSEN, P.K.; SORENSEN, J.B.; JENSEN, K.; JOHANSEN, L.; LEVIN, K. Muscle fiber type distribution and nonlinear VO<sub>2</sub>- power output relationship in cycling. **Med. Sci. Sports Exerc.**, 34(4): 655-661, 2002.

PESTANA, V. R.; MENDONÇA, C .R B; ZAMBIAZI, R. C. Farelo de arroz: características, benefícios à saúde e aplicações. **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**, 26: 29-40, 2008.

POLLA, B.; D'ANTONA, G.; BOTTINELLI, R.; REGGIANI, C. Respiratory muscle fibres: specialisation and plasticity. **Thorax**. 59 (9): 808-817, 2004.

POND, C. Ecology of storage and allocation of resources: animals. **Encyclopedia of Life Sciences**;1-5, 2001..

POWERS, S. K.; HOWLEY, E. T. **Fisiologia do exercício**. 3<sup>a</sup> ed. São Paulo: Manole, 2000

PRINCE, F.P.; HIKIDA, R.S.; HAGERMAN, F.C.; STARON, R.S.; ALLEN, W.H. A morphometric analysis of human muscle fibers with relation to fiber types and adaptations to exercise. **J. Neurol. Sci.**,49(2):165-179, 1981.

PUTMAN, C.T.; XU,X; GILLIES, E.; MACLEAN, I.M.; BELL, G.J. Effects of strength, endurance and combined training on miosina heavy chain content and fibre-type distribution in humans. **Eur. J. Appl. Physiol.**, 92 (45): 376-384, 2004.

RANG, H.P.; DALE, M.M.; RITTER, J.M. **Farmacologia**. 6<sup>a</sup> ed. Rio de Janeiro:

Elsevier. 2007, 848p.

RAO, T.V.; KOUL, R.L.; INUWA, I.M. Congenital fiber-type disproportion myopathy with type I fiber predominance and type II fiber smallness and atrophy-a sterological analysis. **Clin. Neuropathol.**, 24(1):26-31, 2005.

RICQUIER, D.; BOUILLAUD, L.; CASTEILLA, L. The uncoupling protein of brown adipose tissue: physiological and molecular aspects. **Mol. Cel. Biol. New Ser.**, 132:107-116, 1990.

RIVERO, J.L.L.; PIERCY, R.J. Muscle physiology: response to exercise and training. In: HINCHCLIFF, K.W.; KANEPS, A.J.; GEOR, J. **Equine sports medicine surgery: basic and clinical sciences of the equine athlete**. Edinburgh: Saunders Elsevier, 2004, p. 45-76.

ROBERGS, R.A.; ROBERTS, S.O. **Princípios fundamentais de Fisiologia do exercício: para aptidão, desempenho e saúde**. Ed. Phorte: São Paulo, 2002.

RODRIGUES, C. E. C.; ONOYAMA M. M.; MEIRELLES, A.J.A. Optimization of the rice bran oil deacidification process by liquid-liquid extraction. **J.Food Eng.** 73(4): 370-378, 2006.

ROGERS, E. J.; RICE, S. M.; NICOLOSI, R. J.; CARPENTER, D. R.; McCLELLAND, C.A.; ROMANCZYK, L. J. Identification and Quantitation of  $\alpha$ -Oryzanol components and simultaneous assessment of tocopherols in rice bran oil. **J Amer O Chem Soc, Champ**, 70 (3): 301 –307, 1993.

ROOHINEJAD, S.; OMIDIZADEH, A.; MIRHOSSEINI, H.; SAARI, N.; MUSTAFA, S.; YUSOF, R.M.; HUSSIN, A.S.; HAMID, A.; ABD MANAP, M.Y. Effect of pre-germination time of brown rice on serum cholesterol levels of hypercholesterolaemic rats. **J. Sci. Food Agric.**,90(2):245-51, 2010.

ROSENBAUM, M.; PIETROBELLI, A.; VASSELLI, J.R.; HEYMSFIELD, S.B.; LEIBEL, R.L. Sexual dimorphism in circulating leptin concentration is not accounted for by differences in adipose tissue distribution. **Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.**, 25:1365-1371, 2001.

ROTHWELL, N.J.; STOCK, M.J. A role for brown adipose tissue in diet-induced thermogenesis. **Nature**, 281:31-35, 1979.

RUKIMINI, C.; RAGHURAM T.C. Nutricional and biochemical aspects of the hypolipidemic action of rice bran oil: a review. **J Am Coll Nutr**, 10 (6): 593-601, 1991.

SAKAMOTO H., TABATA T., SHIRASAKI K., INAGAKI T., NAKAYAMA S. Effects of gamma-oryzanol and cycloartenol ferulic acid ester on cholesterol diet induced hyperlipidemia in rats. **J Jap Pharmacol**: 45:559 – 65, 1987.

SANTOS, J. W. Protocolos de treinamento aeróbio intervalado e da periodização para natação. **UNESP**, 2004

SANTOS, J.W.; MELLO, M.A.R. Efeito do treinamento contínuo e intervalado de

natação na adiposidade corporal de ratos. In: Congresso de Educação Física e Ciências do Desporto dos Países de Língua Portuguesa, 9, 2002, São Luís, Maranhão. **Anais**. São Luís: UFMA, 2002, jul-ago, p.208.

SCAVARIELLO, E. M.; ARELLANO, D. B. g-Oryzanol: un importante componente del aceite de salvado de arroz. **Arch. Latinoam. Nutr.** 48: 7 – 12; 1998.

SCHIMOLINSKY, G. **Atletismo**. Lisboa: Estampa, 1982.

SCOTT K. P., EDWARD T. H. Fisiologia do exercício: **Teoria e Aplicação ao Condicionamento e Desempenho**. Ed Manole, 3 ed. 2000

SCOTT, B.F.; POTTER, G.D.; EVANS, J.W.; REAGOR, J.C.; WEBB, G.W.; WEBB, S.P. Growth and feed utilization by yearling horses fed added dietary fat. **Equ Veter Sc**, 9(4):210-214, 1989.

SEETHARAMAIAH, G. S.; KRISHMAKANTHA, T. P.; CHANDRASEKHARA, N. Influence of oryzanol on platelet aggregation in rats. **J. Nutr. Sci. Vitaminol**, 36: 291-297, 1990.

SERRANO, A.L.; QUIROZ-ROTHE, E.; RIVERO, J.L.L. Early long-term changes of equine skeletal muscle in response to endurance training and detraining. **Europ J Physiol.**, 441:263-274, 2000.

SHARMA, R.D.; RUKMINI, C.. Rice brain oil and hypocholesterolemic in rats. **Lipids**, 21: 715-717, 1986

SHIMOMURA Y, KOBAYASHI I, MARUTO S, OHSHIMA K, MORI M, KAMIO N & FUKUDAH. Effect of gamm-oryzanol on sérum TSH concentrations in primary hypothyroidism. **Endocrinol Jap**, 12: 83-86. 1980

SILVA, M.A.; SANCHES, C.; AMANTE, E.R. Farelo de arroz composição e propriedades. **Óleos & Grãos**, 10 (61):34-42, 2001.

SJÖDIN, B.; JACOBS, I. Onset of blood lactate accumulation and marathon running performance. **Inter J Sports Med**, 2:..23-26, 1981.

SJÖDIN, A.M.; FORSLUND, A.H.; WESTERTERP, K.R.; ANDERSSON, A.B.; FORSLUND, J.M.; HAMBRAEUS, L.M. The influence of physical activity on BMR. **Med. Sci. Sports Exerc.**, 28(1):85-91, 1996.

STALLKNECHT, B.; VISSING, J.; BALBO, H. Lactate production and clearance in exercise. Effect of training. A mini-review. **Scandinavian Journal of Medicine and Science in Sports**, Copenhagen, v.8, p.127-131, 1998.

STEWART, G.B. **The thoroughbred horse: born to run**. Ed. Capstone Press. Mankato, 1995.

STOCK, M.J. Gluttony and thermogenesis revisited. **Int. J. Obes.**, 23:1105-1117, 1999.

SUGANO M.; KOBAYASHI, E. Health benefits of rice bran oil. **Anticancer**.

**Res.**,19(5A): 3651-7; 1999.

SUGANO, M.; TSUJI, E. Rice bran oil and cholesterol metabolism. **T J of Nutr.** Present in a VII th Asian conference of nutrition: Lipid symposium proceedings, p. 521S-524S,1997.

SUNITHA, T.; MANORAMA, R.; RUKMINI, C. Lipid profile of rats fed blends of rice bran oil in combination with sunflower and safflower oil. **Plant Foods Hum. Nutr.**, 51(1):219-230, 1997.

TAKADA, M.H; LIMA, I. C. Tecido Adiposo como Centro Regulador do Metabolismo. **Arq Bras Endocrinol Metab.**, 50(2):216-229, 2006.

TAYLOR, D.C.; BROOKS, D.E.; RYAN, J.B. Anabolic-androgenic steroid administration causes hypertrophy of immobilized and nonimmobilized skeletal muscle in a sedentary rabbit model. **Am J Sports Med.**,27:718-26, 1999.

TCHERNOF, A.; BELANGER, C.; MORISSET, A.S.; RICHARD, C.; MAILLOUX, J.; LABERGE, P.; DUPONT, P. Regional differences in adipose tissue metabolism in women. **Diabetes**, 55:1353-1360, 2006.

TEGTBUR, U.; BUSSE, M.W.; BRAUMANN, K.M.. Estimation of an individual equilibrium between lactate production and catabolism during exercise. **Med Sci Sports Exerc**, 25:620-7, 1993.

THEIN, L.A.; THEIN, J.M.; LANDRY, G.L. Ergogenic aids. **Phys Ther.**; 75: 426-38; 1995.

THOMSON, D.M.; GORDON,S.E. Diminished overload-induced hipertrofia in aged fast-twitch skeletal muscle is associated with AMPK hyperphosphorylation. **J. Appl. Physiol.**, 98(2):557-564, 2005.

TSEKOURAS, Y.E.; MAGKOS, F.; KELLAS, Y.; BASIOUKAS, K.N.; KAVOURAS, S.A.; SIDOSSIS, L.S. High-intensity interval aerobic training reduces hepatic very low-density lipoprotein-triglyceride secretion rate in men. **Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.**, 295(4): 851-858, 2008.

VALBERG, S. Glycogen depletion patterns in the muscle of Standardbred trotters after exercise of varying intensities and duration. **Equine Vet. J.**, 18:479-484, 1986.

VAN PRAAGH, E.; DORE, E. Short-term muscle power during growth and maturation. **Sports Med.**, 32(11):701-728, 2002.

VENABLES, C.M; ACHTEN, J; JEUKENDRUP, A.E;Determinants of fat oxidation during exercise in healthy men and women: a cross-sectional study. **J. Appl. Physiol.**, 98: 160–167, 2005.

VOLKOV, N. I. **Teoria e prática do treinamento intervalado no esporte.** 1ª ed. Campinas: Multiesportes, 2002. 213p.

WAGNER, J.C. Abuse of drugs used to enhance athletic performance. **Am J**

**Hospital Pharmacy**, 46:2059-2067, 1989.

WAJCHENBERG, B.L.; GIANNELLA-NETO, D.; SILVA, M.E.R.; SANTOS, D.A.; DEPOT, R.F. Specific hormonal characteristics of subcutaneous and visceral adipose tissue and their relation to the metabolic syndrome. **Horm. Metab. Res.**,34:616-621, 2001.

WASSERMAN, K.; McILROY, M. B. Detecting the threshold of anaerobic metabolism in cardiac patients during exercise. **Am J Cardiol**, 14:844-852, 1964.

WEISS, N.; ORON, U. Enhancement of muscle regeneration in the rat gastrocnemius muscle by low energy irradiation. **Anat. And Emb.**,186: 497-503, 1992.

WHEELER,K.B.; GARLEB,K.A. Gamma oryzanol-plant sterol supplementation: metabolic, endocrine, and physiologic effects. **Int J Sport Nutr**, 1(2): 170-7, 1991.

WIDRICK, J.J.; TRAPPE, S.W.; COSTILL, D.L.; FITTS, R.H. Force-velocity and force-power properties of single muscle fibers from elite master runners and sedentary men. **Am. J. Physiol.**, 271(2):676-683, 1996.

WILMORE, J.H.; COSTILL, D.L.; **Fisiologia do Esporte e do Exercício**. São Paulo: Manole, 2001. 726p.

WILSON, T.A.; NICOLOSIA, R.J.; WOOLFREYA, B.; KRITCHEVSKYB, D. Rice bran oil and oryzanol reduce plasma lipid and lipoprotein cholesterol concentrations and aortic cholesterol ester accumulation to a greater extent than ferulic acid in hypercholesterolemic hamsters. **J of Nutr Biochem**, 18: 105-112, 2007.

XU, Z.; HUA, N.; GODBER, J. S. Antioxidant activity of tocopherols, tocotrienols, and gamma-oryzanol components from rice bran against cholesterol oxidation accelerated by 2,2'-azobis (2-methylpropionamidine) dihydrochloride. **J Agric. Food Chem.**, 49:2077-2081, 2001.

YAMAUCHI J, TAKAHARA J, UNELI T & OFUKI T. Inhibition of LH secretion by gamma-orizanol in rat. **Horm Metab Res**, 13:185, 1981.

YOSHINO G., KAZUMI T., AMANO M., TAKIEWA M., YAMASAKI T., TAKASHIMA S., et al. Effects of gamma-oryzanol and probucol on hiperlipidemia. **Curr Ther Res.**, 45: 975 – 82; 1989.

ZAMBLAZI, R. The role of endogenous lipid components on vegetable oil stability. Manitoba. Thesis (Doctor of Philosophy), **Food Nutr Sc Inter Prog**, 1997.

ZAWADOWSKA, B.; MAJERCZAK, J.; SEMIK, D.; KARASINSKI, J.; KOLODZIEJSKI, L.; KILARSKI, W.M.; DUDA, K.; ZOLADZ, J.A. Characteristics of miosina profile in human vastus lateralis muscle in relation to training background. **Folia Histochem. Cytobiol.**, 42(3):359-369, 2004.

ZHANG, Y.; PROENCA, R.; MAFFEI, M.; BARONE, M.; LEOPOLD, L.; FRIEDMAN J.M. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. **Nature**,

372: 425-32, 1994.

ZHIMIN, X.; NA, H.; GODBER, J. S.; Antioxidant Activity of Tocopherols, Tocotrienols, and Gamma-Oryzanol. Components from Rice Bran against Cholesterol Oxidation Accelerated by 2,2'-Azobis (2-methylpropionamide) Dihydrochloride. **J. Agric. Food Chem.** 49, 2077 – 2081, 2001.

# ANEXOS








Universidade Estadual de Maringá  
Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação  
Comitê de Conduta Ética no Uso de Animais em Experimentação



Parecer emitido após reunião realizada em: 9/11/2010

Parecer nº 115/2010

Pesquisador: Solange Marta Franzói de Moraes	Setor: DFS
Título:	Protocolo nº 058/2010
<b>Alterações morfofisiológicas de ratos treinados e suplementados com gama orizanol</b>	
Entrada: 4/10/2010	Início: 1/10/2010
	Término: 1/2/2011
Situação do Projeto: <b>Aprovado</b>	
Relatório Final: <b>Aguarda finalização do projeto</b>	
ATENÇÃO: este parecer, quando a situação do projeto constar "aprovado", autoriza os proponentes a executarem o protocolo em questão. O certificado será emitido após apreciação do relatório final.	
<b>Considerações e Parecer:</b>	
Após análise e discussão do Projeto e baseado no fato de que a Metodologia a ser empregada segue os Princípios Éticos na Experimentação Animal, somos de Parecer Favorável que este Comitê Aprove o presente Projeto.	
 Dr <sup>a</sup> Vânia Anjos Presidente do CEAE/UEM	

Artigo 10 da Resolução nº 032/2006-CEP: Os projetos analisados serão enquadrados em uma das seguintes categorias:

- I - aprovado;
- II - pendente, quando o CEAE considerar o protocolo e o projeto como aceitáveis, porém com problemas no protocolo, no projeto ou em ambos, e houver recomendação de uma revisão específica, ou solicitação de modificação ou informação relevante, que deverá ser atendida em até 60 dias, após o recebimento da comunicação, pelo coordenador do projeto;
- III - arquivado, quando o protocolo permanecer pendente, transcorridos 30 dias, após o prazo previsto no Inciso II do recebimento da comunicação;
- IV - não aprovado

www.ppg.uem.br - e-mail: ceaa@uem.br

**ANEXO B: Protocolo de treinamento em esteira – MODERADA INTENSIDADE**

1ª semana	Estágio	Velocidade	Tempo	observação
Segunda	1	0.4	2.0	4 séries
	2	0.6	2.0	
	3	0.8	1.0	
	4	0.9	1.0	
	5	0.6	2.0	
Terça	1	0.4	2.0	4 séries
	2	0.6	2.0	
	3	0.8	1.0	
	4	0.9	1.0	
	5	1.0	1.0	
	6	0.4	1.0	
Quarta	1	0.4	2.0	4 séries
	2	0.6	2.0	
	3	0.8	1.0	
	4	0.9	1.0	
	5	1.0	1.0	
	6	0.4	1.0	
Quinta	1	0.4	1.0	4 séries
	2	0.6	2.0	
	3	0.8	2.0	
	4	0.9	1.0	
	5	1.0	1.0	
	6	0.4	1.0	
Sexta	1	0.4	1.0	4 séries
	2	0.6	1.0	
	3	0.8	2.0	
	4	0.9	2.0	
	5	1.0	1.0	
	6	1.1	1.0	
	7	0.4	1.0	
2ª semana	Estágio	Velocidade	Tempo	observação
Segunda	1	0.4	2.0	4 séries
	2	0.6	2.0	
	3	0.8	1.0	
	4	0.9	2.0	
	5	1.1	1.0	
	6	0.4	1.0	
Terça	1	0.4	1.0	4 séries
	2	0.6	2.0	
	3	0.8	3.0	
	4	0.9	1.0	
	5	0.4	1.0	
Quarta	1	0.4	1.0	4 séries
	2	0.6	2.0	
	3	0.8	3.0	
	4	0.9	1.0	
	5	1.1	1.0	
	6	0.4	1.0	
Quinta	1	0.4	1.0	
	2	0.6	2.0	

	3	0.8	2.0	4 séries
	4	0.9	1.0	
	5	1.0	1.0	
	6	1.1	1.0	
	7	0.4	1.0	
Sexta	1	0.6	1.0	4 séries
	2	0.8	2.0	
	3	1.0	2.0	
	4	0.6	1.0	
	5	1.0	1.0	
	6	1.1	1.0	
	7	0.4	1.0	
3ª semana	Estágio	Velocidade	Tempo	observação
Segunda	1	0.4	1.0	3 séries
	2	0.6	2.0	
	3	0.8	2.0	
	4	0.9	1.0	
	5	1.0	2.0	
	6	0.6	1.0	
Terça	1	0.6	1.0	3 séries
	2	0.8	1.0	
	3	0.6	1.0	
	4	0.9	1.0	
	5	0.6	1.0	
	6	1.1	1.0	
	7	0.4	2.0	
Quarta	1	0.4	2.0	3 séries
	2	0.6	2.0	
	3	0.8	1.0	
	4	0.9	1.0	
	5	1.0	1.0	
	6	0.4	1.0	
Quinta	1	0.4	1.0	3 séries
	2	0.6	2.0	
	3	0.8	2.0	
	4	0.9	1.0	
	5	1.0	1.0	
	6	0.4	1.0	
Sexta	1	0.4	1.0	3 séries
	2	0.6	1.0	
	3	0.8	2.0	
	4	0.9	2.0	
	5	1.0	1.0	
	6	1.1	1.0	
	7	0.4	1.0	
4ª semana	Estágio	Velocidade	Tempo	observação
Segunda	1	0.4	1.0	3 séries
	2	0.6	2.0	
	3	0.8	2.0	
	4	0.9	2.0	
	5	1.1	1.0	
	6	0.4	1.0	
Terça	1	0.4	1.0	
	2	0.6	2.0	

	3	0.8	3.0	3 séries
	4	0.9	1.0	
	5	0.4	1.0	
Quarta	1	0.4	1.0	3 séries
	2	0.6	2.0	
	3	0.8	3.0	
	4	0.9	1.0	
	5	1.1	1.0	
	6	0.4	1.0	
Quinta	1	0.4	1.0	3 séries
	2	0.6	2.0	
	3	0.8	2.0	
	4	0.9	1.0	
	5	1.0	1.0	
	6	1.1	1.0	
	7	0.4	1.0	
Sexta	1	0.6	1.0	3 séries
	2	0.8	2.0	
	3	1.0	2.0	
	4	0.6	1.0	
	5	1.0	1.0	
	6	1.1	1.0	
	7	0.4	1.0	
5 <sup>a</sup> semana	Estágio	Velocidade	Tempo	observação
Segunda	1	0.4	1.0	3 séries
	2	0.6	2.0	
	3	0.8	2.0	
	4	0.9	1.0	
	5	1.0	2.0	
	6	0.6	1.0	
Terça	1	0.6	1.0	3 séries
	2	0.8	1.0	
	3	0.6	1.0	
	4	1.0	1.0	
	5	0.6	1.0	
	6	1.2	1.0	
	7	0.4	2.0	
Quarta	1	0.4	2.0	3 séries
	2	0.6	2.0	
	3	0.8	1.0	
	4	1.0	1.0	
	5	1.2	1.0	
	6	0.4	1.0	
Quinta	1	0.6	1.0	3 séries
	2	0.8	1.0	
	3	0.6	1.0	
	4	1.0	1.0	
	5	0.6	1.0	
	6	1.2	1.0	
	7	0.4	2.0	
Sexta	1	0.4	1.0	
	2	0.6	1.0	
	3	0.8	2.0	
	4	1.2	2.0	

	5	1.4	1.0	3 séries
	6	0.6	2.0	
6ª semana	Estágio	Velocidade	Tempo	observação
Segunda	1	0.4	1.0	3 séries
	2	0.6	2.0	
	3	0.8	2.0	
	4	1.0	2.0	
	5	1.2	1.0	
	6	0.4	1.0	
Terça	1	0.4	1.0	3 séries
	2	0.6	2.0	
	3	0.8	3.0	
	4	1.0	2.0	
	5	0.4	1.0	
Quarta	1	0.4	1.0	3 séries
	2	0.6	2.0	
	3	0.8	1.0	
	4	1.0	2.0	
	5	1.2	1.0	
	6	0.4	1.0	
Quinta	1	0.6	1.0	3 séries
	2	0.8	1.0	
	3	0.6	1.0	
	4	1.0	1.0	
	5	0.6	1.0	
	6	1.2	1.0	
	7	0.4	2.0	
Sexta	1	0.4	1.0	3 séries
	2	0.6	1.0	
	3	0.8	2.0	
	4	1.2	2.0	
	5	1.4	1.0	
	6	0.6	2.0	