

ALTERAÇÕES BIOQUÍMICAS PROVOCADAS POR CONTRACEPTIVOS HORMONAIS DURANTE A ATIVIDADE FÍSICA AQUÁTICA MODERADA EM RATAS

MACHADO, Marilú Gonçalves¹
ROMBALDI, Airtton José²
PEREIRA, Cristina Nogueira³
CECIM, Marcelo da Silva⁴
TOURINHO, Lilian Simone Pereira Ribeiro⁵
SAMPEDRO, Renan Maximiliano Fernandes⁶

RESUMO

Este trabalho objetivou analisar alterações bioquímicas provocadas por contraceptivos hormonais em ratas da raça Wistar, durante atividade física aquática moderada. Vinte e três ratas (60 dias de idade e peso de $212,17 \pm 28,03$ gramas no início do experimento) foram utilizadas, divididas em 4 grupos, sendo 2 experimentais e 2 controle. Os grupos experimentais foram treinados em exercício aquático moderado durante 9 semanas e receberam contraceptivo hormonal ou placebo aquoso através de sonda orogástrica. Os grupos controle, receberam as mesmas soluções contendo contraceptivo hormonal ou placebo através de sonda orogástrica, mas permaneceram sedentárias até o momento do sacrifício. As concentrações de lactato foram maiores nos grupos de ratas sedentárias ($p < 0,03$), independente de utilizarem medicamento ou placebo. As concentrações de glicogênio hepático estiveram em níveis maiores no grupo de ratas experimentais ($p < 0,000001$) e, dentro deste grupo, as ratas que receberam contraceptivo hormonal apresentaram maiores concentrações ($p < 0,001$) quando comparadas com o grupo experimental que recebeu placebo. Nas variáveis glicose ($p < 0,148$), ácidos graxos livres ($p < 0,686$) e glicogênio muscular ($p < 0,872$), não foram encontradas diferenças significativas entre os grupos. Concluiu-se que os contraceptivos hormonais, usados durante atividade física, podem beneficiar a performance, no que se refere as concentrações de glicogênio hepático.

Unitermos: contraceptivo hormonal, alterações bioquímicas, exercício aquático

¹ Especialista em Educação Física - Fisiologia do Exercício (CEFD/UFSM), ² Prof. Adjunto ESEF/UFPEL - Doutor em Fisiologia do Exercício, ³ Profª Assistente CCNE/UFSM - Doutoranda em Bioquímica, ⁴ Prof. Adjunto CCR/UFSM - Doutor em Endocrinologia, ⁵ Profª Assistente DEF/UPF - Mestre em Fisiologia do Exercício, ⁶ Prof. Titular CEFD/UFSM - Doutor em Fisiologia do Exercício

ABSTRACT**BIOCHEMICAL CHANGES DUE TO HORMONAL CONTRACEPTIVE DURING AQUATIC PHYSICAL ACTIVITY IN FEMALE RATS**

This purpose of this study was to analyse the biochemical alterations induced by the use of hormonal contraceptive in Wistar female rats during moderate physical aquatic activity. Twenty three female rats (60 days old, weighing $212,17 \pm 28,03$ grams at the beginning of the experiment) were used, and they were divided into four groups: two experimental and two control. The experimental groups were trained with moderate aquatic exercise during a 9-week period and received hormonal contraceptive or placebo, orally. The control groups received the same treatment, but remained sedentary until the moment of sacrifice. The lactate concentrations were higher in the sedentary group ($p < 0,03$) either using contraceptives or placebo. The hepatic glycogen concentrations were higher in the experimental groups ($p < 0,000001$), and the rats that received contraceptive showed higher concentration level of glycogen ($p < 0,001$), when compared to the placebo group. Glucose ($p < 0,148$), free fatty acids ($p < 0,686$), and muscular glycogen ($p < 0,872$), did not show significant differences between groups. It was concluded that the use of hormonal contraceptive during physical activity can improve performance related to hepatic glycogen concentrations.

Uniterms: hormonal contraceptive, aquatic exercise, biochemical alterations

INTRODUÇÃO

As mulheres têm percorrido um largo caminho no campo dos esportes nas últimas décadas, estabelecendo alguns recordes e superando alguns obstáculos.

Atualmente, mulheres atletas estão desafiando os homens em seus domínios no esporte. Além disso, a competência profissional feminina no atletismo, voleibol, golfe e tênis, realmente é de primeira classe e as mulheres também estão competindo em remo, triatlon, levantamento de peso, maratona e natação, entre outros. Todos os dias, as mulheres demonstram quão iguais são, do ponto de vista atlético, aos homens (Pirie, 1989; Lebrun, 1993).

Apesar desse avanço, a mulher depende de alguns fatores que podem influenciar no seu rendimento, entre eles, os contraceptivos hormonais (CH).

As pílulas anticoncepcionais são usadas por um grande número de mulheres e por um período de tempo considerável. O controle eficaz da concepção trouxe à sociedade um avanço incontestável, na medida em que facilitou à mulher sua

emancipação e participação no mercado de trabalho e na área desportiva. No entanto, os efeitos verdadeiros dessas substâncias químicas (hormônios) sobre o desempenho atlético ainda são contraditórios.

A influência dos esteróides contraceptivos na performance do exercício é importante para atletas femininas (Lebrun, 1993). Existem poucas informações relacionadas à influência do uso de CH sobre a resposta ao exercício em mulheres. Apesar de seu uso generalizado, os efeitos colaterais associados ao papel dos esteróides sexuais femininos ingeridos exogenamente na *performance* do exercício, têm recebido pouca atenção dos pesquisadores. Os CH induzem mudanças no metabolismo energético e na utilização de substratos, sendo importante para mulheres ativas que fazem uso dos CH conhecer estas alterações. Tal informação teria significado clínico de modo que a terapia oral pudesse ser um efetivo tratamento das disfunções menstruais e na proteção do esqueleto ósseo para evitar osteoporose em atletas femininas amenorréicas. Os CH têm sido relatados como sendo capazes de alterar a função metabólica endócrina de repouso, dependendo da potência da combinação dos CH ingeridos (Lebrun, 1993).

Os vários efeitos metabólicos dos esteróides nos CH sugerem que esses hormônios podem alterar a *performance*, embora o exato efeito dos CH não tenham sido descobertos (Bemben et al., 1992).

Estudo realizado por Bale & Davies (1983) com estudantes de Educação Física que ingeriram CH, relatou que nenhuma estudante imaginava que sua *performance* tivesse sido deteriorada em decorrência da ingestão da pílula.

Ainda é pouco conhecido e contraditório se hormônios presentes nos CH podem ou não ter um potencial para aumentar ou interferir com a qualidade de uma *performance* individual, alterando sua força, coordenação, tempo de reação, *endurance* ou metabolismo. Contudo, estudos indicam que as mulheres que tomam pílulas anticoncepcionais são menos ativas do que aquelas que não as tomam (Bemben, 1993).

Segundo Mathews & Fox (1986), tanto a *endurance* muscular quanto a produção total de força são cerca de 20% menores em mulheres que usam anticoncepcionais orais, quando comparadas com aquelas que não tomam esse medicamento.

Para utilizar corretamente um recurso que a ciência coloca à disposição das pessoas, é necessário que os profissionais da saúde tenham conhecimento sobre o assunto e se disponham a um aconselhamento amplo, claro, honesto e ético (Freitas et al., 1993).

Buscando maior esclarecimento dos verdadeiros efeitos dos CH sobre a *performance* e acreditando que uma atividade física regular possa amenizar esses efeitos sobre a *performance*, bem como trazer, para os profissionais da área de

fisiologia do exercício, maiores subsídios e segurança para desenvolver programas de atividades físicas para esta população, apresentou-se o seguinte problema de pesquisa:

É possível que contraceptivos hormonais ingeridos durante atividade física aquática moderada, produzam alterações bioquímicas em ratas maturadas da raça Wistar?

O objetivo do estudo foi analisar algumas alterações bioquímicas provocadas pelos contraceptivos hormonais durante a atividade física aquática moderada em ratas maturadas da raça Wistar.

METODOLOGIA

Tendo em vista a dificuldade da realização deste experimento com seres humanos, devido as ações invasivas e ao controle necessário para o sucesso do mesmo, foram utilizados animais (Slentz et al., 1990). No entanto, os resultados obtidos não impedem que sejam extrapolados, com restrições, obviamente, para seres humanos (Kokubun, 1990).

Foram utilizadas 24 ratas maturadas da linhagem Wistar, com idade de 60 dias e peso de $212,17 \pm 28,03$ gramas no início do experimento. Os animais foram obtidos no Biotério Central da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), sendo mantidas em gaiolas coletivas, alimentadas com ração própria para roedores e água *ad libitum*. Foi mantido um ciclo de claro/escuro de 12 horas/12 horas, com ciclo de luz iniciando às 6:00 horas. Os animais permaneceram em um ambiente com temperatura média de $24 \pm 1^\circ\text{C}$. O experimento foi realizado entre as 8:00 e às 11:00 horas, diariamente.

Os animais, antes de serem submetidos ao tratamento experimental, foram adaptados e treinados no exercício aquático, de modo a suportar ininterruptamente o exercício durante 1 hora, apresentando, assim, durante o tratamento experimental, as adaptações bioquímicas e fisiológicas provocadas pelo treinamento.

Neste sentido, a intensidade empregada no estudo foi equivalente a uma carga submáxima; para tanto, foi utilizado um sobrepeso de chumbo de 8% do peso corporal do animal, preso ao tronco através de um elástico (Kokubun, 1990).

Procedimento de natação

O sistema de natação utilizado neste trabalho foi composto de um tanque circular, com capacidade para 250 litros de água, interligado com um aquecedor de água. A água foi mantida com uma profundidade de 40 cm, na temperatura de $31 \pm 1^\circ\text{C}$.

Durante o período de tratamento experimental, os animais foram submetidos à natação com um sobrepeso de chumbo. Este procedimento foi necessário pois, sem este recurso, os animais poderiam se exercitar por mais de 5 horas (Kokubun, 1990) sem atingir a intensidade pretendida. O sobrepeso foi equivalente à intensidade moderada; esta equivalência é determinada pelo tempo que o animal consegue flutuar/nadar na superfície da água, em função do sobrepeso utilizado. Quanto maior o sobrepeso, menor tempo de flutuação e mais depressa o animal será carregado para o fundo do tanque, precisando nadar vigorosamente para subir a tona e respirar. Sobrepesos de 6-8% do peso corporal do animal são considerados cargas aeróbicas e apresentam *steady-state* de lactato. Cargas de 10% são elevadas, mas inferiores ao VO_2 max e cargas de 12% do peso corporal de ratas evidenciam o VO_2 max. Cargas supramáximas de aproximadamente 120% do VO_2 max são produzidas por sobrepesos de 15% do peso corporal do animal (Kokubun, 1990).

O período previsto para que o treinamento dos animais pudesse produzir as necessárias adaptações foi de 9 semanas. Os animais foram exercitados 5 vezes por semana, durante 1 hora por dia. No primeiro dia de treinamento, os animais foram adaptados ao meio líquido durante 15 min, no segundo dia 30 min, passando a 45 min no terceiro dia e logo após, 60 min no quarto dia da primeira semana de exercício contínuo sem carga. Após este período inicial, os animais receberam sobrepeso de 8% do seu peso corporal, de modo alcançar a intensidade desejada.

Os animais foram pesados semanalmente, sempre as segundas-feiras, de modo que a carga foi aumentada de acordo com aumento do peso do animal.

Controle da ciclicidade estral dos animais, antes e durante o tratamento

Para um melhor controle do efeito do hormônio nos animais, foi realizado esfregaço vaginal antes e durante o experimento:

- antes: ratas foram acompanhadas até que estivessem com ciclos regulares de cinco dias, começando-se então a administração do CH;
- durante: os ciclos apresentaram-se irregulares com predominância de células nucleadas comprovando assim a eficácia do medicamento.

Para tanto foi utilizado uma pipeta de Pasteur, que foi lavada 3-4 vezes em água destilada. A mesma foi preparada com solução fisiológica e introduzida cerca de 0,5 cm da ponta da pipeta na vagina da rata. Introduzindo o soro fisiológico e logo em seguida aspirando-o, colhendo assim o fluido vaginal. O material colhido foi depositado em uma lâmina limpa, previamente desengordurada. A amostra foi examinada em um microscópio da marca Polskie Zakłady Optyczne Minska 25/03-808 Warszawa, com aumento médio.

As fases do ciclo foram identificadas de acordo com os seguintes critérios:

- proestro: o esfregaço apresenta grande número de células nucleadas, pequenas, poucas células cornificadas e tipos intermediários. A característica desta fase é a ausência total de leucócitos. A ovulação ocorre na noite, deste dia.

- estro: nesta fase do ciclo a grande maioria das células estão cornificadas. Não se observa presença de células nucleadas, nem de leucócitos.

- metaestro: nesta fase, pode-se observar os 3 tipos de células. Há grande infiltração de leucócitos e observa-se também algumas células nucleadas e cornificadas.

- diestro: observa-se, nesta fase, grande quantidade de leucócitos e muco. Há ausência quase completa de células nucleadas e cornificadas (Carobrez et al., 1984).

Anticoncepcional hormonal

Foi administrado uma formulação comercial de contraceptivo hormonal oral, monofásico, contendo 0,15 mg levonorgestrel (progestogênio) e 0,03 mg de etinilestradiol (estrogênio), por ser o mais comumente usado pelas mulheres e por não apresentar variação de seus componentes (progestogênio e estrogênio), tornando-se mais viável e segura a análise das variáveis que foram estudadas.

Um sistema de sonda foi introduzido via oral no animal diariamente. Cada comprimido foi dissolvido em 1 mL de álcool e 10 mL de água sendo administrado para cada animal, por 4 semanas ininterruptas, 1 décimo do comprimido (Puah & Bailey, 1985). Foi estipulado um horário de ingestão para ser obedecido durante todo o desenvolvimento do trabalho, o qual é postulado para se ter uma ação eficaz do hormônio (Bemben et al., 1992).

Placebo

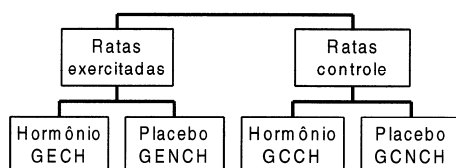
Foi administrado, para o grupo de ratas controle, a mesma quantidade de água, no mesmo horário e da mesma maneira (através de sonda) para que todas as ratas tivessem as mesmas condições no experimento.

Tratamento experimental

Os animais foram alimentados todos os dias, até o final do experimento. As ratas foram divididas em 4 grupos: 2 foram submetidos a um programa de atividade física moderada e 2 permaneceram sedentários, sendo cada grupo constituído de 5-6 animais. Do total, 2 grupos - GECH e GCCH - estiveram ingerindo CH. Os outros

dois grupos, GENCH e GCNCH ingeriram placebo. Das 24 ratas que iniciaram o experimento, vinte e três terminaram-no. Os animais foram sacrificados no dia posterior a última sessão de exercício.

Quadro 1 – Design experimental adotado no estudo.



Obtenção do sangue e de amostra de tecidos

Sangue

Os animais foram sacrificados por decapitação, recolhendo-se o sangue em tubos de vidro, sem anticoagulante. Do sangue total, o soro foi obtido por centrifugação a 700xg durante 15 min, sendo separadas amostras para determinações de glicose, lactato e AGL.

Amostra de tecidos

Por laparotomia mediana, retirou-se uma porção de aproximadamente 250 mg do fígado. A pele do membro posterior foi removida e foi retirado cerca de 250 mg da porção medial superficial (porção branca) do músculo gastrocnêmio. O músculo esquelético e o fígado foram imediatamente, depois de pesados, colocados em tubos com KOH a 30% e imersos em banho fervente, por 30 min.

Determinações bioquímicas

Glicose

Foi determinada no soro, através de método eletroquímico com enzima imobilizada (glicose-oxidase). Foi utilizado para tanto, o analisador de glicose/L-lactato YSI-Modelo 2300 Stat, Yellow Springs Instruments Co. Inc., OH.

Lactato

Foi determinado no soro, através de método eletroquímico, com enzima imobilizada (lactato-oxidase). Foi utilizado para tanto, o analisador de glicose/L-lactato YSI- Modelo 2300 Stat, Yellow Springs Instruments Co. Inc., OH.

Ácidos graxos livres (AGL)

Em 7 mL de um solvente seletivo (clorofórmio, heptano, metanol, 28:21:1) foram adicionados 0,3 mL de soro, seguido de forte agitação e centrifugação a 700 xg durante 5 min. Ao sobrenadante, foi adicionada a solução $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ 0,05 M, trietanolamina 0,10 M, NaOH 0,035 N e NaCl 35% a pH 8,1, seguido de nova agitação e centrifugação. A 3,0 mL do sobrenadante foi adicionado 0,5 mL de solução de dietilditiocarbamato de sódio (1 mg/mL de butanol secundário). A concentração de AGL foi medida a 435 nm contra curva de calibração de ácido palmítico (Falholt et al., 1973).

Glicogênio

Tecido muscular

Alíquotas de tecidos foram retiradas, pesadas e imediatamente digeridas durante 30 min em banho a 100°C em 1 mL de solução de KOH a 30%. Adicionou-se 0,1 mL (100µL) de solução saturada de Na_2SO_4 e o glicogênio foi precipitado através de duas passagens em 3,5 mL de etanol a quente, seguido de centrifugação, descartando-se o sobrenadante (Sjogren et al., 1938). O glicogênio precipitado foi ressuspenso em 5 mL de água deionizada. Para dosagem, foi retirada 200µL (0,2 mL) da amostra e acrescentado 0,8 mL de H_2O destilada, 10µL de reagente de cor e 2,5 mL de H_2SO_4 (ácido sulfúrico). Levado para banho maria fervente por 15 min, logo após resfriado e a absorbância medida em 490 nm (Dubois et al., 1956). Foram utilizadas soluções de glicose para as curvas de calibração.

Tecido hepático

Utilizou-se o mesmo método descrito para o músculo, exceto pelas seguintes modificações:

- a digestão foi realizada em 1,5 mL de solução de KOH 30%;
- a precipitação do glicogênio em 0,2 mL (200µL) de Na_2SO_4 e 3,5 mL de etanol;

- após a extração, o precipitado foi ressuspenso em 25 mL de água de ionizada.

Para dosagem foi retirado 50 μ L (0,05 mL) da amostra, acrescentou-se 0,95 mL de H₂O destilada, sendo que o restante da técnica é igual a do glicogênio muscular.

Tratamento estatístico

O procedimento estatístico adotado foi uma análise de variância fatorial, sendo adotado o nível de significância de $p < 0,05$. O pacote estatístico empregado foi o STATISTICS para Windows, versão 4.3 da Statsoft Inc. Os dados estão expressos como média \pm desvio-padrão (dp).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O grupo constitui-se de vinte três animais do gênero feminino da raça Wistar, com peso médio inicial de $212,17 \pm 28,03$ gramas divididos em quatro grupos. A Tabela 1 mostra as médias e desvios-padrão das variáveis dependentes analisadas no estudo.

Tabela 1 - Médias e desvios-padrão das variáveis dependentes analisadas nestes estudo.

Grupos	Lactato (mmol/L)	Grupos	Lactato (mmol/L)
GECH	2,34 \pm 0,51	GCCH	2,50 \pm 0,65
GENCH	2,23 \pm 0,24	GCNCH	3,30 \pm 0,51
Glicogênio hepático (mg/100mg)		Glicogênio hepático (mg/100mg)	
GECH	6,81 \pm 0,70	GCCH	2,6 \pm 0,55
GENCH	5,11 \pm 0,66	GCNCH	3,08 \pm 0,66
Ácidos graxos livres (mEq/L)		Ácidos graxos livres (mEq/L)	
GECH	0,62 \pm 0,33	GCCH	0,59 \pm 0,53
GENCH	0,62 \pm 0,34	GCNCH	0,64 \pm 0,12
Glicose (mg/dL)		Glicose (mg/dL)	
GECH	88,60 \pm 11,93	GCCH	85,67 \pm 8,48
GENCH	76,83 \pm 15,34	GCNCII	88,67 \pm 9,97
Glicogênio Muscular (mg/100mg)		Glicogênio Muscular (mg/100mg)	
GECH	0,68 \pm 0,24	GCCH	0,54 \pm 0,29
GENCH	0,51 \pm 0,31	GCNCH	0,40 \pm 0,26

Efeitos do medicamento

O ciclo das ratas experimentais e controle ingerindo CH foi acompanhado durante todo experimento, com o objetivo de verificar se o hormônio estava exercendo o efeito esperado. Os grupos de ratas que ingeriram CH tiveram seus ciclos alterados apresentando predominantemente células nucleadas (proestro), comprovando-se a eficácia do medicamento. O exercício não afetou o ciclo das ratas experimentais submetidas ao placebo, pois as mesmas apresentaram ciclos normais durante todo o experimento.

Lactato

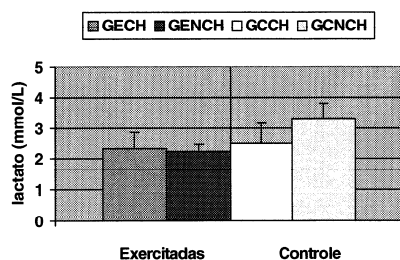
Pode-se verificar na Tabela 1 a eficácia do treinamento em provocar mudanças metabólicas, pois as concentrações de lactato mais elevadas nos animais sedentários ocorreram em consequência da inexistência de efeitos do exercício aeróbico. No entanto, apesar das concentrações significativamente mais elevadas nos animais destreinados, todos os grupos apresentaram valores de lactato inferior a 4 mmol/L, ou sublimiáres, comprovando que a intensidade de 8% do peso corporal dos animais representou uma carga moderada.

A Tabela 2 apresenta os resultados da análise de variância em relação a variável dependente lactato. Pode-se observar que somente exerceu efeito significativo a variável independente exercício. A variável contraceptivo hormonal (medicamento) e a interação entre as variáveis independentes exercício x medicamento, igualmente não exerceram efeito significativo.

Tabela 2 - Análise de variância sobre o efeito das variáveis independentes sobre a concentração de lactato

Variáveis independentes	F	Probabilidade > F
Exercício	4,92	0,038
Medicamento	0,97	0,336
Interação exercício x medicamento	2,18	0,155

A Figura 1 apresenta as concentrações de lactato comparando animais exercitados e controles. Os níveis mostrados pelos animais sedentários apresentaram-se mais elevados significativamente que os exercitados ($p < 0,038$). Não encontrou-se diferença significativa para os grupos CH e os seus controles, independente de serem exercitados ou sedentários, em consequência do uso do medicamento.

Figura 1 – Concentração sanguínea de lactato nos animais exercitados e controle.

Estes achados estão de acordo com as pesquisas de Bonen et al. (1991), que estudaram um grupo de 15 mulheres sendo 7 mulheres ingerindo CH e 8 mulheres com ciclo menstrual normal durante um teste de alta intensidade, os quais relataram ter havido um aumento nas concentrações de lactato em ambos os grupos durante o exercício, porém, este aumento não teve diferença significativa entre os grupos. Também concordam com os relatos de Daggett et al. (1983), que estudando um grupo de 7 mulheres em dois períodos, antes e durante o uso de CH, em duas sessões de 60 minutos de exercício em bicicleta ergométrica, os autores não encontraram diferença significativa no lactato, quando comparados os dois períodos de testes, com e sem uso de CH.

Huisveld et al. (1983), também não encontraram diferença nas concentrações de lactato quando compararam mulheres ingerindo CH com grupo controle, porém o teste realizado foi máximo.

Hatta et al. (1988), relataram resultados similares aos deste experimento, usando grupos distintos de ratas Wistar recebendo injeção intraperitoneal de hormônio ou placebo, com um grupo recebendo estrogênio, outro estrogênio e progesterona e um terceiro, placebo oleoso. O tratamento durou oito dias, sendo que os animais realizaram treinamento de corrida rápida três dias, durante uma semana, por 60 minutos, não sendo encontrada diferença nas concentrações de lactato pós-exercício, nos três grupos. Logo, a hipótese formulada que após o final do experimento as concentrações de lactato nas ratas exercitadas ingerindo CH seriam menores que nas ratas exercitadas sem ingestão de CH, não foi válida.

Glicogênio hepático

Como pode ser observado na Tabela 1, as concentrações de glicogênio hepático dos animais exercitados são significativamente mais elevadas que aquelas dos animais destreinados, salientando-se que a concentração média dos animais exercitados que receberam CH foi significativamente maior que as ratas exercitadas que receberam placebo. Finalmente, não houve diferença entre as concentrações de glicogênio hepático nos animais sedentários.

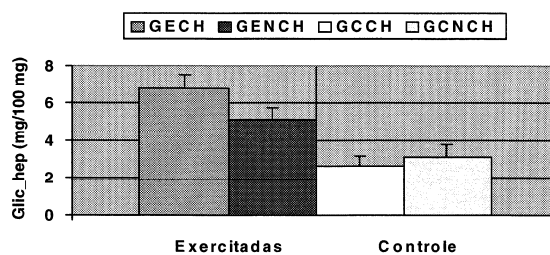
A Tabela 3 apresenta os resultados da análise de variância em relação aos efeitos das variáveis independentes sobre a concentração hepática de glicogênio. Verifica-se, que exerceram efeitos significativos as variáveis independentes exercício, medicamento e a interação entre ambas.

Tabela 3 - Análise de variância sobre o efeito das variáveis independentes sobre a concentração de glicogênio hepático

Variáveis independentes	F	Probabilidade > F
Exercício	136,7819	0,000001
Medicamento	5,927	0,024845
Interação exercício x medicamento	14,5274	0,001278

A figura 2 apresenta as concentrações de glicogênio hepático nos grupos exercitados e sedentários. Pode-se observar que houve diferença significativa entre os grupos exercitados e sedentários ($p < 0,000001$), independente do medicamento; isto é, os grupos exercitados tiveram maiores concentrações de glicogênio hepático que os grupos sedentários.

Figura 2-Concentração de glicogênio hepático nos grupos exercitados e sedentários.



Pode-se observar na Figura 2 que os grupos de ratas exercitadas apresentaram concentrações de glicogênio hepático maiores que as ratas sedentárias; entretanto, o grupo exercitado que ingeriu CH teve maiores concentrações que o grupo exercitado sem ingestão ($p < 0,0004$). Porém, no que se refere aos grupos controle independente do medicamento, não houve diferença ($p < 0,3478$). Pode-se, então, supor que durante o exercício os CH proporcionam uma maior economia no glicogênio hepático, estando estes resultados de acordo com a hipótese deste experimento que previa encontrar economia de glicogênio hepático no grupo exercitado ingerindo CH.

A tabela 4 mostra o resultado do teste *post-hoc* de Tukey considerando, a interação das variáveis independentes, exercício x medicamento sobre a concentração hepática de glicogênio e confirma o que já foi relatado quando da discussão da figura 2.

Estes resultados estão de acordo com os de Carrington & Bailey (1985) que realizaram um estudo com vários grupos de ratas albinas ingerindo esteróides sexuais sintéticos (ethinyl estradiol e acetato noratestosterona) e naturais (17 β -estradiol e progesterona) administrados individualmente, uma combinação estrogênio e progestogênio, e um placebo ingeridos diariamente por via oral, durante 24 dias. Os autores avaliaram as concentrações de glicogênio hepático, encontrando maiores concentrações nas ratas que estavam ingerindo algum tipo de hormônio, quando comparadas com o grupo de ratas que ingeriram placebo.

Tabela 4 - Resultados do teste *post-hoc* de Tukey para localizar diferenças entre as médias da interação exercício-medicamento sobre a concentração de glicogênio hepático.

Interação Exercício/medicamento			Teste de Tukey (p>F)			
			(1)	(2)	(3)	(4)
Sedentárias	Placebo	(1)	-	0,347896	0,000183	0,000150
Sedentárias	CH	(2)	0,347896	-	0,000153	0,000179
Exercitadas	Placebo	(3)	0,000183	0,000153	-	0,000468
Exercitadas	CH	(4)	0,000150	0,000179	0,000468	-

O resultados deste estudo também estão de acordo com os dados obtidos por Schillinder & Gerhards (1973), que avaliaram nas mesmas condições as concentrações de glicogênio hepático de ratas Wistar com administração subcutânea de hormônio, comparando com grupo controle recebendo placebo por 14 dias. Os autores encontraram, igualmente, maiores concentrações de glicogênio hepático nas ratas ingerindo hormônio do que nas que estavam recebendo placebo. Estes dois experimentos, entretanto, não foram realizados durante atividade física.

Ácidos graxos livres (AGL)

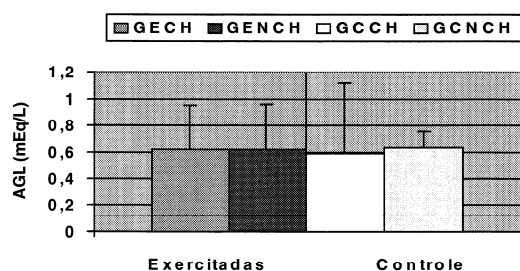
A tabela 5 mostra os resultados da análise de variância dos ácidos graxos livres, verificando-se que não existiram quaisquer efeitos das variáveis independentes exercício, medicamento ou da sua interação sobre a concentração sérica de AGL nos animais deste experimento.

Tabela 5 - Análise de variância sobre o efeito das variáveis independentes sobre a concentração sérica de AGL

Variáveis independentes	F	Probabilidade > F
Exercício	0,384	0,542
Medicamento	0,594	0,450
Interação exercício x medicamento	0,167	0,686

Estes achados estão de acordo com aqueles encontrados por DAGGET et al. (1983), que analisaram um grupo de mulheres durante duas sessões de 60 minutos de exercício em bicicleta ergométrica antes e depois da ingestão de CH, sendo que o segundo teste foi feito após seis semanas a ingestão de CH. Os autores não encontraram diferença nas concentrações de AGL nos dois momentos distintos dos testes.

Figura 3 – Concentração sérica de AGL de animais exercitados e controle.



Bemben et al. (1992), também encontraram dados semelhantes quando compararam mulheres moderadamente ativas durante exercício submáximo de 90 minutos, em esteira, padronizado a 50% do VO_2 máximo, sendo um grupo ingerindo CH e outro grupo com ciclo menstrual normal. Os autores encontraram concentrações de AGL estatisticamente semelhantes para ambos os grupos.

Os presentes achados concordam também com Hatta et al. (1988), que realizaram estudo com três grupos de ratas da raça Wistar, durante 60 minutos de corrida, sendo um grupo com ingestão de estrogênio, outro grupo com ingestão de estrogênio e progesterona e um grupo controle ingerindo somente óleo (placebo), e não encontraram diferença significativa nas concentrações de AGL nos três grupos.

Glicose sérica

A tabela 6 mostra os valores da análise de variância quanto a concentração de glicose. Pode-se verificar por estes resultados, que nenhuma das variáveis independentes, nem a sua interação, proporcionaram efeitos significantes sobre a glicemia dos animais. Não obstante, os grupos mostraram concentrações glicêmicas normais.

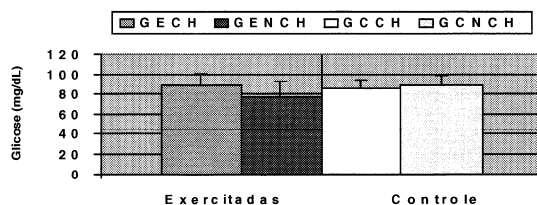
Tabela 6 - Análise de variância sobre o efeito das variáveis independentes sobre a concentração de glicose sérica

Variáveis independentes	F	Probabilidade > F
Exercício	0,826	0,374
Medicamento	0,801	0,381
Interação exercício x medicamento	2,274	0,148

Estes resultados estão de acordo com os encontrados por Hatta et al. (1988), quando analisaram 3 grupos de ratas Wistar, durante 60 min de corrida em esteira, após terem ingerido dois diferentes tipos de CH e um placebo. Os autores não encontraram diferença nas concentrações de glicose nos três grupos.

Daggett et al. (1983), também não encontraram diferença nos níveis de glicose quando compararam um grupo de mulheres que foram avaliadas em dois testes em bicicleta ergométrica, antes da ingestão CH e durante a administração do hormônio.

Figura 4 – Concentração sérica de glicose em ratas exercitadas e controle.



Schillinder & Gerhards (1973), injetaram num grupo de ratas em repouso uma combinação de 5mg ethynyl estradiol + 50mg dl-norgestrel, e em outro grupo, 5mg ethynyl estradiol + 400 mg acetato norethindrone. Comparando com um grupo placebo, os autores não encontraram diferença nas concentrações séricas de glicose.

Glicogênio muscular

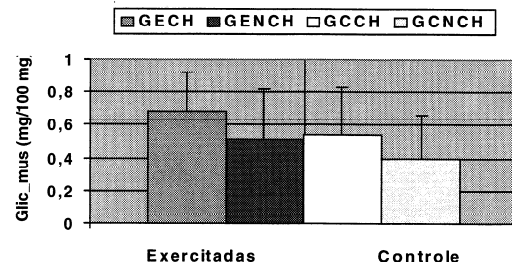
A tabela 7 mostra os valores da análise de variância quanto aos efeitos das variáveis exercício, medicamento e sua interação sobre a concentração de glicogênio muscular. Verifica-se nestes resultados que nenhuma das variáveis independentes, nem sua interação, proporcionaram efeitos significantes sobre os níveis de glicogênio muscular dos animais.

Apesar de ter existido maior concentração de glicogênio muscular nos grupos exercitados em relação aos que permaneceram sedentários e nos grupos que receberam CH em relação àqueles que ingeriram placebo (Tabela 1), as diferenças entre as médias não foram significativas.

Estes resultados estão em acordo com aqueles encontrados por Daggett et al. (1983) que estudando um grupo de 7 mulheres em dois períodos antes e durante o uso de CH, em duas sessões de 60 minutos de exercício em bicicleta ergométrica os autores não encontraram diferença nas concentrações de glicogênio muscular quando comparados os dois períodos de testes, com e sem uso de CH.

Tabela 7 - Análise de variância sobre o efeito das variáveis independentes sobre a concentração de glicogênio muscular

Variáveis independentes	F	Probabilidade > F
Exercício	1,24	0,279
Medicamento	1,84	0,190
Interação exercício x medicamento	0,02	0,872

Figura 5 – Concentração muscular de glicogênio de animais exercitadas e controle.

CONCLUSÕES

Observando os resultados deste estudo, conclui-se que a ingestão de contraceptivo hormonal durante atividade física moderada, resultou em:

- 1 - maiores concentrações de glicogênio hepático durante exercício;
- 2 - níveis glicêmicos normais durante exercício;
- 3 - menores níveis de lactato sanguíneo nos grupos exercitados independente do uso de CH;
- 4 - níveis de ácidos graxos livres similares entre os grupos;
- 5 - níveis de glicogênio muscular similares entre os grupos;
- 6 - O exercício não afetou a ciclicidade dos animais que serviram de controle;
- 7 - obteve-se o efeito fisiológico esperado pois os animais que ingeriram CH, apresentaram ciclo predominante com células nucleadas.

Conseqüentemente, os contraceptivos hormonais, usados durante atividade física podem beneficiar a performance no que se refere as concentrações de glicogênio hepático.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BALE, P. & DAVIES, J. (1983). Effects of menstruation and contraceptives pill on the performance of physical education students. **British Journal of Sports Medicine**. v. 17, n. 1, p. 46-50.
- BEMBEN, A. D; BOILEAU, A.R; BAHR, J.M. et al. (1992). Effects of oral contraceptive on hormonal and metabolic responses during exercise. **Medicine and Science in Sports and Exercise**. v. 24, n. 4, p. 434-441.
- BEMBEN, D.A. (1993). Metabolic effects of oral contraceptives: Implications for exercise responses of premenopausal women. **Sports Medicine**. v. 16, n. 5, p. 295-304.
- BONEN, A.; HAYNES, F.W. & GRAHAM, T.E. (1991). Substrate and hormonal responses to exercise in women using oral contraceptive. **Journal of Applied Physiology**. v. 70, n. 5, p.1917-1927.
- CAROBREZ, A.P.; PINTO, C.M.H; NETO, E.F. et al. (1984). Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto. Departamento de Fisiologia. Ribeirão Preto, não paginado (mimeo).
- CARRINGTON, L.J. & BAILEY, C.J. (1985). Effects of natural and synthetic estrogens and progestins on glycogen deposition in female mice. **Hormone Research**. v. 21, p. 199-203.
- DAGGETT, A.; DAVIES, B. & BOOBIS, L. (1983). Physiological and biochemical responses to exercise following oral contraceptive use. Abstract. **Medicine and Science in Sports and Exercise**. v. 15, p. 174.
- DUBOIS, M.; GILLES, K.A.; HAMILTON, J.K.; REBERS, P.A. & SMITH, F. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical Chemistry**, v. 28, n. 3, p. 350-356.
- FALHOLT, K.; LUND, B. & FALHOT, W. (1973). An easy colorimetric micromethod for routine determination of free fatty acids in plasma. **Clinica Chimica Acta**. v. 46, p. 105-111.

FREITAS, F.; MENKE, C.H. & RIVOIRE, W. (1993). **Rotinas em fisiologia**. 2. ed., Porto Alegre: Artes Médicas.

HATTA, H.; ATOMI, Y.; SHINOHARA, S. et al. (1988) The effects of ovarian hormones on glucose and fatty acid oxidation during exercise in female ovariectomized rats. **Hormone Metabolism Research**. v. 20, p. 609-611.

HUISVELD, I.A.; HOSPERS, J.E.H.; BERNINK, M.J.E. et al. (1983). The effect of oral contraceptives and exercise on hemostatic and fibrinolytic mechanisms in trained women. **International Journal of Sports Medicine**. v. 4, n. 2, p. 97-103.

KOKUBUN, E. (1990) **Interações entre o metabolismo de glicose e ácidos graxos livres em músculos esqueléticos**. São Paulo, SP. USP. Tese (Doutorado em Ciências Biomédicas) - Universidade de São Paulo.

LEBRUN, C.M. (1993). Effect of the different phases of the menstrual cycle and oral contraceptives on athletic performance. **Sports Medicine**. v.16, n. 6, p. 400-430.

MATHEWS, D.K & FOX, L.D. (1986). **Bases fisiológicas da educação física e dos desportos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.

PIRIE, L. (1989). **El deporte durante el embarazo**. Buenos Aires: Médica Panamericana.

PUAH, J.A. & BAILEY, C.J. (1985). Effect of ovarian hormones on glucose metabolism in mouse soleus muscle. **Endocrinology**, v. 4, n. 117, p. 1336-1340.

SCHILLINDER, E. & GERHARDS, E. (1973). Influence of hormonal contraceptive on carbohydrate and lipid metabolism in the rat. **Biochemical Pharmacology**. v. 22, p. 1835-1844.

SLENTZ, C.A.; DAVIS, J.M.; SETTLES, D.L.; PATE, R.R. & SETTLES, S.J. (1990). Glucose feedings and exercise in rats: glycogen use, hormone response, and performance. **Journal of Applied Physiology**. v. 69, n. 3, p. 989-994.

SJOGREN, B.; NORDENSKJOLD, T.; HOLMGREN, H. & MOLLERSTROM, J. (1938). Beitrag zur kenntnis der leberhythmik: (glykogen, phosphor und calcium in der kaninchenleber). **Pflugers Arch. Gesante Physiol. Menschen Tiere**, v. 240, p. 427-448.