



**ERIC FRANCELINO ANDRADE**

**AVALIAÇÃO DE PARÂMETROS METABÓLICOS EM  
RATOS SUPLEMENTADOS COM GLICEROL NA DIETA E  
SUBMETIDOS A EXERCÍCIO AERÓBIO**

**Lavras - MG**

**2014**

**ERIC FRANCELINO ANDRADE**

**AVALIAÇÃO DE PARÂMETROS METABÓLICOS EM RATOS  
SUPLEMENTADOS COM GLICEROL NA DIETA E SUBMETIDOS A  
EXERCÍCIO AERÓBIO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, área de concentração em Ciências Veterinárias, para a obtenção do título de Mestre.

Orientador

Dr. Luciano José Pereira

Coorientadores

Dr. Gustavo Puggina Rogatto

Dr. Márcio Gilberto Zangeronimo

**LAVRAS-MG**

**2014**

**Ficha Catalográfica Elaborada pela Coordenadoria de Produtos e  
Serviços da Biblioteca Universitária da UFLA**

Andrade, Eric Francelino.

Avaliação de parâmetros metabólicos em ratos suplementados com glicerol na dieta e submetidos a exercício aeróbio / Eric Francelino Andrade. – Lavras : UFLA, 2014.

144 p. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 2014.

Orientador: Luciano José Pereira.

Bibliografia.

1. Glicerina. 2. Nutrição animal - Fenômenos fisiológicos. 3. Atividade motora. 4. Alimentos para praticantes de atividade física. 5. Hiper-hidratação. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 636.0855

**ERIC FRANCELINO ANDRADE**

**AVALIAÇÃO DE PARÂMETROS METABÓLICOS EM RATOS  
SUPLEMENTADOS COM GLICEROL NA DIETA E SUBMETIDOS A  
EXERCÍCIO AERÓBIO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, área de concentração em Ciências Veterinárias, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 21 de Fevereiro de 2014.

Dra. Juliana Trindade Clemente Napimoga

UNICAMP

Dr. Leonardo Rigoldi Bonjardim

USP

Dr. Gustavo Puggina Rogatto

UFLA

Dra. Luciano José Pereira  
Orientador

**LAVRAS – MG**

**2014**

*À minha mãe Ione Francelino Andrade (in memoriam) que me mostrou o que é certo e errado, e sempre me incentivou a buscar meus sonhos com honestidade...*

**DEDICO**

## AGRADECIMENTOS

À Deus, por nunca me desamparar e por mostrar que, mesmo em todas as adversidades, devemos sempre buscar nossos objetivos. Obrigado pelas provações e por me fazer suportá-las, pois sem elas não existiria crescimento.

Aos meus pais (Ione Francelino Andrade e Wellington Resende Andrade) e avós (Antônio Wander de Andrade e Hilda Resende Andrade), pela paciência que tiveram durante minha criação e educação, e também por sempre me ensinarem a ser justo e honesto.

Aos meus tios, Wanderley Resende de Andrade, Marina Resende Andrade e Maria Aparecida Francelino, por serem anjos na minha vida e por sempre estarem de braços abertos para me acolher.

Ao meu irmão (Alex Resende Andrade) e meus primos, por continuarem me mostrando o quão boa é a infância e por sempre fazerem com que eu me sinta nesta fase.

À Débora Ribeiro Orlando, por ter mudado minha vida, pelo amor, companheirismo, cumplicidade e por fazer com que eu sempre procure ser uma pessoa melhor.

Não poderia esquecer-me dos meus grandes amigos Dênnis Bernardino e Luiza Antunes, por compartilharem os bons momentos e as risadas durante todos esses anos, e por se manterem presentes.

Obrigado Raquel Vieira Lobato, Ticiania Vasques de Araújo, Andressa Naira de Jesus Pereira, Víviam de Oliveira Silva, Karen Guttenkunst Lizenko, Núbia Ferreira Gomes e Larissa Jahnel Rodrigues de Oliveira, que começaram como colegas de curso e hoje tenho como amigas. Sem elas não teria conseguido desenvolver o projeto que deu origem a esta dissertação.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Luciano José Pereira, por toda ajuda e também pela paciência e confiança. Da mesma forma agradeço a meus co-

orientadores, Prof. Dr. Gustavo Puggina Rogatto e Prof. Dr. Márcio Gilberto Zangerônimo, por sempre estarem de portas abertas.

Ao Prof. Dr. Raimundo Vicente de Sousa e à sua equipe, pela ajuda ao longo do meu curso.

Ao excelentíssimo Reitor da Universidade Federal de Lavras, José Roberto Soares Scolforo, à Coordenação do Programa de Pós-graduação, representada pelo Prof. Dr. Márcio Gilberto Zangerônimo e pelo secretário José Reinaldo (Berin). Agradeço também à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior.

À equipe de professores e alunos do Departamento de Zootecnia que ajudaram cedendo laboratórios, materiais e equipamentos

À equipe técnica (especialmente ao Willian César) e aos demais docentes do Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias e do Departamento de Medicina Veterinária, por serem sempre prestativos e eficientes.

*“Se o momento é de crise, não te perturbes, segue... Serve e ora, esperando que suceda o melhor. Queixas, gritos e mágoas são golpes em ti mesmo. Silencia e abençoa, a verdade tem voz.”*

Chico Xavier



## RESUMO GERAL

O glicerol tem sido utilizado como suplemento alimentar para animais e humanos. Além disso, a suplementação com essa substância é feita por atletas devido às suas propriedades osmóticas que promovem hiper-hidratação. No entanto pouco foi relatado quanto aos efeitos metabólicos do consumo crônico de glicerol concomitante ao treinamento físico. Objetivou-se, com o presente estudo, verificar os efeitos de quatro semanas de suplementação com glicerol na dieta concomitante ao treinamento físico em ratos. Foram utilizados 30 ratos *Wistar*, adultos, que foram distribuídos em delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 2x3 (com ou sem exercício e três substratos – glicose, glicerol e salina). Os animais foram submetidos a seis semanas de treinamento aeróbio em meio aquático, com carga relativa a 5 % do peso corporal. Nas quatro últimas semanas de experimento, os animais foram suplementados com um dos substratos de acordo com o grupo, por via oral (gavagem). Os dados foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste SNK, a 5 %. O consumo de glicerol provocou diminuição na ingestão alimentar, tanto nos animais treinados, quanto nos não treinados, não influenciando a variação do peso corporal e consumo de água. Os animais não treinados e suplementados com glicerol apresentaram maior porcentagem de proteínas na carcaça. O consumo de glicerol aumentou os níveis de colesterol total e triacilgliceróis (TAG), sendo observada diminuição nesses parâmetros quando associada ao treinamento. A suplementação associada ao treinamento provocou diminuição nos níveis de *low-density lipoprotein + very-low-density lipoprotein* (LDL+VLDL-C) dos animais. O consumo isolado de glicerol aumentou a área e diâmetro de adipócitos, sendo que, associado ao treinamento, isso não foi observado. A suplementação com glicerol em ambos os grupos aumentou o peso relativo de adrenal, não alterando esse parâmetro no coração, rins, fígado ou timo. Não foram observadas alterações histopatológicas hepáticas, renais ou pancreáticas. Os animais suplementados com glicerol tiveram menor variação nos níveis de lactato e aspartato aminotransferase (AST) pós-exercício. Conclui-se que, em ratos, a suplementação com glicerol não promoveu efeitos deletérios quando concomitante ao treinamento. Observou-se melhora no perfil de lipoproteínas plasmáticas, de parâmetros de degradação tecidual (AST) e redução dos níveis de lactato, retardando o tempo de fadiga. No entanto, a suplementação com glicerol sem treinamento aumentou a área e o diâmetro de adipócitos, bem como os níveis de TAG e colesterol total.

**Palavras-chave:** Glicerina; Fenômenos Fisiológicos da Nutrição Animal; atividade motora; Alimentos para Praticantes de Atividade Física; hiper-hidratação.

## GENERAL ABSTRACT

Glycerol has been used as a food supplement for animals and humans. Furthermore, supplementation with this substance is made by athletes due to their osmotic properties that promote hyperhydration. However only a few studies have reported the effects of chronic consumption of glycerol concomitant to physical training. Thus, the aim of this study was to verify the metabolic effects of four weeks of dietary supplementation with glycerol concomitant to physical training in rats. Thirty male adult Wistar rats, which were distributed in a completely randomized 2x3 factorial scheme (with or without exercise and three substrates - glucose, glycerol and saline) were used. The animals were subjected to six weeks of aerobic training in water with load relative to 5 % of body weight. In the last four weeks of the experimental period, the animals were orally supplemented with one of the substrates (gavage). Data were subjected to analysis of variance (ANOVA) and means were compared by SNK test at 5 %. The consumption of glycerol caused a reduction in food intake in both trained or not groups, not influencing the variation in body weight and water consumption. The untrained animals supplemented with glycerol showed a higher percentage of protein in the carcass. Alone, the consumption of glycerol increased levels of total cholesterol and triacylglycerols (TAG), and a decrease was observed in these parameters when associated with training. In addition, concomitant supplementation to training led to a decrease in low-density lipoprotein + very-low-density lipoprotein (LDL + VLDL-C) levels. The use of glycerol alone increased the area and diameter of adipocytes, and when associated with training that fact was not observed. Supplementation with glycerol alone or concomitantly with the training increased the relative weight of adrenal, not changing the heart, kidneys, liver and thymus relative weight. Nor histopathological changes in liver, kidney and pancreatic tissues were observed. The animals supplemented with glycerol had less variation in the levels of lactate and aspartate aminotransferase (AST) after exercise. It was concluded that in rats, supplementation with glycerol did not cause deleterious effects when concurrent with training. Improvement was observed in the plasma lipoproteins, tissue degradation parameters (AST) and reduced the levels of lactate profile, delaying fatigue time. However supplementation with glycerol in untrained animals increased adipocytes diameter and area, as well as the levels of TAG and total cholesterol.

**Keywords:** Glycerin, Animal Nutritional Physiological Phenomena, Motor Activity, Foods for Persons Engaged in Physical Activities, hyperhydration.

## LISTA DE FIGURAS

### PRIMEIRA PARTE

Figura 1. Produção de Biodiesel e glicerol/glicerina bruta.....12

### SEGUNDA PARTE – ARTIGOS

#### ARTIGO 1

Figura 1. Etapas do experimento.....78

Figura 2. Parâmetros relativos a consumo alimentar e hídrico, excreção urinária, variação do peso corporal e peso relativo de órgãos de ratos submetidos ou não a treinamento físico de seis semanas e suplementados com glicerol, glicose ou salina na dieta, durante quatro semanas ..... 79

Figura 3. Parâmetros bioquímicos sanguíneos de ratos submetidos ou não a treinamento físico de seis semanas e suplementados com glicerol, glicose ou salina na dieta, durante quatro semanas..... 80

Figura 4. Medidas de adipócitos e relação vilosidade/cripta dos diferentes segmentos do intestino delgado de ratos submetidos ou não a treinamento físico de seis semanas e suplementados com glicerol, glicose ou salina na dieta, durante quatro semanas..... 81

#### ARTIGO 2

Figura 1. Etapas do experimento.....120

Figura 2. Parâmetros de composição química corporal de ratos submetidos ou não a treinamento físico de seis semanas e suplementados com glicerol, glicose ou salina na dieta, durante quatro semanas..... 121

- Figura 3. Peso relativo de órgãos e diâmetro de fibras do músculo gastrocnêmio de ratos submetidos ou não a treinamento físico de seis semanas e suplementados com glicerol, glicose ou salina na dieta, durante quatro semanas..... 122
- Figura 4. Níveis séricos de lactato e Aspartato Aminotransferase (AST) antes e depois da última sessão de exercício e variação (delta: Inicial-final) em ratos submetidos a seis semanas de treinamento e suplementados com glicerol, glicose ou salina na dieta, durante quatro semanas.....123

## **LISTA DE TABELAS**

### **SEGUNDA PARTE – ARTIGOS**

#### **ARTIGO 1**

Tabela 1. Distribuição dos grupos experimentais.....77

#### **ARTIGO 2**

Tabela 1. Distribuição dos grupos experimentais (n=5 animais por grupo)...119

## SUMÁRIO

	<b>PRIMEIRA PARTE</b>	
<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>10</b>
<b>2</b>	<b>REFERENCIAL TEÓRICO.....</b>	<b>11</b>
<b>2.1</b>	<b>Glicerol.....</b>	<b>11</b>
<b>2.2</b>	<b>Funções terapêuticas do glicerol .....</b>	<b>13</b>
<b>2.3</b>	<b>Toxicidade do Glicerol .....</b>	<b>14</b>
<b>2.4</b>	<b>Metabolismo do Glicerol.....</b>	<b>16</b>
<b>2.5</b>	<b>Glicerol como suplemento alimentar.....</b>	<b>18</b>
<b>2.6</b>	<b>Exercício Físico.....</b>	<b>22</b>
<b>2.7</b>	<b>Exercício Físico e Glicerol.....</b>	<b>23</b>
<b>3</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>25</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>27</b>
	<b>SEGUNDA PARTE – ARTIGOS.....</b>	<b>40</b>
	<b>ARTIGO 1 Efeitos metabólicos da associação de glicerol na dieta e treinamento físico aeróbio em ratos wistar.....</b>	<b>40</b>
	<b>ARTIGO 2 Adaptação ao treinamento físico de ratos treinados e suplementados com glicerol na dieta.....</b>	<b>82</b>
	<b>CONCLUSÕES GERAIS.....</b>	<b>124</b>
	<b>ANEXOS.....</b>	<b>125</b>

## PRIMEIRA PARTE

### 1 INTRODUÇÃO

O glicerol (propano-1,2,3-triol) é um triálcool oriundo de óleos vegetais ou animais, que apresenta alto valor energético (4.320 kcal de energia bruta por kg de glicerol puro). Em razão de suas propriedades nutricionais, essa substância recebeu nos Estados Unidos o status GRAS (*Generally Recognized as Safe*) pelo *Food and Drug Administration* (FDA), caracterizando-a como segura para o consumo inclusive por seres humanos.

Estudos envolvendo o consumo de glicerol por animais e humanos têm demonstrado que essa substância pode promover efeitos anorexigênicos, diminuindo o consumo alimentar e conseqüentemente o ganho de peso. Adicionalmente, têm sido relatadas propriedades hiper-hidratantes promovidas por seu efeito osmótico no organismo. Dessa forma, tais propriedades fizeram com que essa substância fosse utilizada como suplemento para atletas (animais e humanos), com intuito de regular os fluidos corporais, durante atividades de longa duração e/ou em ambientes hostis (altas temperaturas e baixa umidade). Uma vez que o glicerol aumenta a retenção de líquidos, sua utilização foi considerada *doping* no ano de 2010 pela *World Anti-Doping Agency*, em razão desse efeito mascarar a detecção de substâncias ergogênicas.

Adicionalmente, ainda existem controvérsias quanto aos efeitos ergogênicos e metabólicos promovidos pelo consumo de glicerol por atletas e praticantes de atividade física, uma vez que poucos são os relatos sobre a suplementação crônica em indivíduos submetidos a treinamento. Dessa forma, objetivou-se, com o presente estudo, avaliar parâmetros relacionados à saúde e desempenho físico de ratos suplementados com glicerol na dieta e submetidos a treinamento aeróbio em intensidade moderada.

## **2 REFERENCIAL TEÓRICO**

### **2.1 Glicerol**

O aumento no consumo de combustíveis para motores acarretou uma maior necessidade de produção de energia, de forma que a utilização de combustíveis fósseis tornou-se ambientalmente e economicamente dificultada (SOUZA et al., 2010). Assim, tornou-se necessária a utilização de novas fontes para produção de energia, o que impulsionou o desenvolvimento de pesquisas para a produção de biocombustíveis (CONSELHO EMPRESARIAL BRASILEIRO PARA O DESENVOLVIMENTO SUSTENTÁVEL - CEBDES, 2008). No Brasil, a energia dos biocombustíveis representa uma importante contribuição às demandas no setor industrial, residencial e de transporte (GOLDEMBERG, 2000).

O biodiesel pode ser definido como um combustível alternativo, composto por éster monoalquil de ácidos graxos de cadeia longa, derivados de gordura animal ou óleos vegetais. Em sua produção, é utilizada a técnica de transesterificação de óleos vegetais, em que são utilizados na reação, alcoóis (etanol ou metanol) e catálise básica (KOH ou NaOH), gerando três moléculas de ésteres metílicos e uma molécula de glicerina ou glicerol (GERPEN et al., 2004).

O glicerol oriundo da produção do biodiesel é obtido através de um processo de transesterificação, que consiste na reação dos óleos vegetais e álcool (etanol ou metanol), formando então um produto composto por ésteres de cadeia longa denominado biodiesel (DELATORRE et al., 2011). No início desse processo, a matéria- prima é neutralizada com solução alcalina (geralmente hidróxido de sódio), e secada para que posteriormente ocorra a



transesterificação. A separação do biodiesel da mistura resultante desse processo (composto por restos de catalizadores, álcool, diglicerídeos, monoglicerídeos de glicerol) é realizada pela separação das fases, sendo que a fase composta por glicerol ou glicerina é destilada para remoção de interferentes e a fase que contém o biodiesel é purificada por meio de centrifugação seguida de desidratação (CEBDES, 2008). O fluxograma da Figura 2 apresenta as etapas do processo de extração do biodiesel, com consequente formação de glicerina/glicerol.

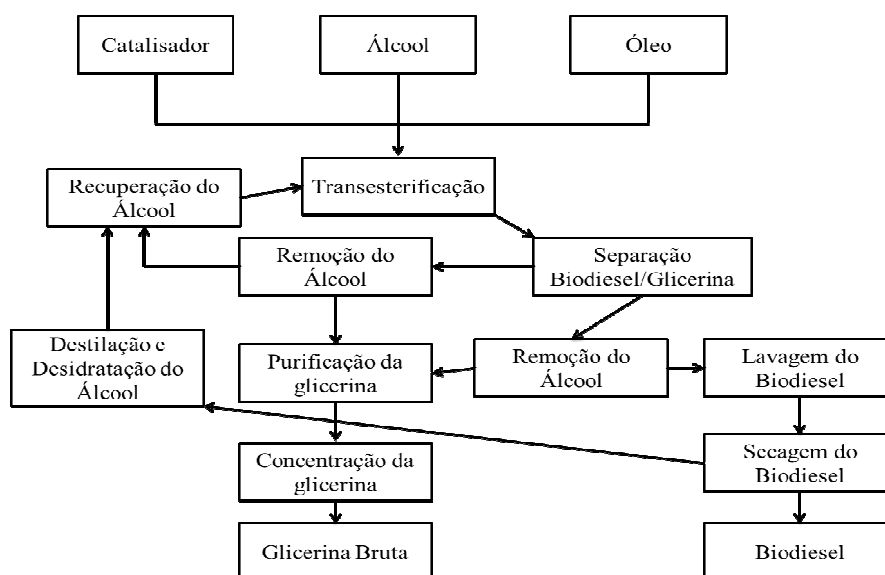


Figura 1 Produção de Biodiesel e glicerol/glicerina bruta. Fonte: Adaptado de Parente (2003).

O glicerol (1,2,3-propanotriol) é um triálcool presente na composição de óleos de origem animal e vegetal (ARRUDA; RODRIGUES; FELIPE, 2007). Sua extração é realizada através do processo de transesterificação desses óleos,

em que além do glicerol bruto, são gerados resíduos de catalisadores, sabão, álcoois (metanol ou etanol), monoacilglicerol, diacilglicerol, oligômeros de glicerol e água (OOI et al., 2004). O glicerol bruto apresenta-se como um líquido viscoso e pardo escuro, muitas vezes denominado “glicerina”, ou “glicerina bruta”, que é o nome utilizado para identificar o produto comercial obtido após a produção do biodiesel (MOTA; SILVA; GONÇALVES, 2009).

No entanto, existem diferentes classificações definidas de acordo com o grau de pureza dessa substância, sendo que, produtos com cerca de 80 % de pureza são denominados, como já mencionado, glicerol ou glicerina bruta. Quando a pureza do glicerol é superior a 90 %, define-se então o *technical glycerol*; já a forma ultrapura, com pureza superior a 99,7 %, recebe a definição de *pharmaceutical-grade glycerol* (VICENTE et al., 2010). Assim, substâncias com maior grau de pureza de glicerol, possuem as características de um líquido viscoso, incolor, inodoro e higroscópico, com sabor doce, solúvel em água e álcool, insolúvel em éter e em clorofórmio (RIVALDI et al., 2008). Já os produtos com menor grau de pureza, geralmente apresentam contaminantes (metanol, sais de catálise, dentre outros) oriundos do processo de extração, que por sua vez conferem certa toxicidade quando consumidos (DASARI, 2007).

## **2.2 Funções terapêuticas do glicerol**

Devido às suas características hiperosmóticas, atualmente o glicerol tem sido utilizado como ferramenta terapêutica na medicina humana (AJDUKIEWICZ et al., 2011; SINGHI; JÄRVINEN; PELTOLA, 2008) e veterinária (WASSERMAN et al., 2013). Efeitos terapêuticos positivos como a redução de sequelas neurológicas e do volume de fluido cérebro-espinhal foram observados em pacientes com meningite bacteriana que consumiram glicerol (PELTOLA et al., 2007; SINGHI; JÄRVINEN; PELTOLA, 2008). Tais efeitos

estão relacionados à mudança na osmolaridade sérica causada pela hiperosmolaridade do glicerol, que provoca a redução de edemas melhorando a circulação cerebral (PELTOLA et al., 2007). Outra patologia onde tratamento com glicerol pode ser utilizado na atenuação dos efeitos, é o glaucoma, caracterizado pelo aumento da pressão intraocular (OFRI, 2002). Em cães, a dose oral de glicerol na quantidade de 1,5 g/Kg do animal, diminuiu em 17 % a pressão intraocular e aumentou a osmolaridade sérica durante o período de quatro horas após sua administração (WASSERMAN et al., 2013). Adicionalmente, mesmo provocando o aumento no volume de líquido extracelular, não foi observada elevação da pressão arterial em humanos saudáveis que consumiram doses de glicerol de 885 mg/kg e 1710 mg/kg de peso corporal. No entanto, quando essas mesmas doses foram administradas em pacientes diabéticos houve uma tendência de aumento (sem diferença significativa) da pressão arterial frente ao consumo da dose mais alta (THORNIT et al., 2009).

### **2.3 Toxicidade do Glicerol**

Existem poucos relatos sobre a hepatotoxicidade do glicerol quando ingerido. Adicionalmente, em ratos, não foram observadas alterações nas concentrações das enzimas indicadoras de lesão hepática, alanina aminotransferase (ALT) e aspartato aminotransferase (AST), quando os animais receberam solução de glicerol (50 % v/v, 10 ml/kg) (HWANG et al., 2011). Porém, foi observado também em ratos que tal substância quando administrada via intramuscular provocou lesões renais, sendo então utilizada em protocolos de indução de injúria renal (HWANG; YUN, 2011; LOCHHEAD; KHARASCH; ZAGER, 1998; MARTIM et al., 2007; NATH et al., 2000). Lochhead, Kharasch e Zager (1998) investigaram os efeitos do anestésico isoflurano sobre a função

renal de ratos Sprague Dawley com lesão renal aguda induzida por uma solução de glicerol (50 % v/v, 9 ml/Kg, divididas em duas doses iguais administradas em um único dia). Tal concentração resultou em necrose muscular na região onde foi injetada, carregamento da proteína heme intrarenal, hemólise e lesão tubular grave.

O comportamento da função renal de ratos submetidos a um período de seis meses de injeções semanais de solução hipertônica de glicerol (50 % v/v, 7,5 ml/Kg corporal) foi analisada em estudo desenvolvido por Nath et al. (2000). Esses autores observaram que, logo após a primeira injeção, houve uma queda na taxa de filtração glomerular e que, após as outras dosagens, houve resistência na queda dessa função até o final dos primeiros três meses, seguido de um declínio progressivo até o final do sexto mês.

Quando administrado via intraperitoneal, Rieger et al. (2008) observaram que uma solução hipertônica de glicerol (50 % v/v, 10,0 ml/Kg) provocou aumento nos níveis de creatinina e lactato desidrogenase renal e sérica, diminuição da atividade das enzimas creatina quinase e piruvato quinase nos rins, aumento na formação de radicais livres renais e plasmáticos, assim como peroxidação de lipídeos e carbonilação protéica, sugerindo assim, estresse oxidativo.

Whitlock, Guerrant e Dutcher (1944) compararam os efeitos de três diferentes séries experimentais de dieta acrescida com glicerol ou propileno glicol em ratos. Foi observado que, quando incorporado na dieta (substituindo os carboidratos na ração) durante 20 semanas, a concentração de 30 % de glicerol não provocou alterações significativas sobre o crescimento de ratos jovens, quando comparados à dieta em que o propilenoglicol foi incorporado.

A administração de solução (20 ml/Kg de água contendo 5 % de glicerol) via intragástrica em ratos aumentou a retenção de fluidos em 50 %, atenuou a micção por um período de três horas e não apresentou efeitos tóxicos,

destacando então os efeitos hiper-hidratantes do glicerol (LIONS; RIEDESEL, 1993).

Mesmo apresentando baixa toxicidade quando consumido via oral, alguns estudos relataram sintomas provenientes da ingestão do glicerol em humanos, como, por exemplo, sensação de estômago cheio (MARINO; KAY; CANNON, 2003; NELSON; HARMON; ROBERGS, 2011), dores de cabeça (GLEESON; MAUGHAN; GREENHAFF, 1986; MARINO; KAY; CANNON, 2003), náuseas (ROSENDAL et al., 2012), vômito e diarreia (MACLAREN et al., 1975). Os sintomas mais graves relatados foram hemólise e hemoglobinúria em indivíduos que receberam a concentração de glicerol de 1 g/kg de peso corporal em solução salina a 20 % (HÄGNEVIK et al., 1974). Efeitos similares (hemólise e hemoglobinúria) foram observados em roedores que receberam injeção intramuscular de solução a 50 % de glicerol (HAYES et al., 1970).

#### **2.4 Metabolismo do Glicerol**

A disponibilidade do glicerol no organismo pode ocorrer a partir da quebra de lipoproteínas, glicerolipídeos e triacilgliceróis (TAG) provenientes da lipólise, ou a partir do consumo de alimentos que contenham essa substância (HAGOPIAN; RAMSEY; WEINDRUCH, 2008; LIN, 1977). A difusão facilitada do glicerol através da membrana celular é mediada por proteínas carreadoras denominadas “aquaporinas” (AQP), cujas principais transportadoras de glicerol (aquaglicerolporinas) são as AQP3 (expressas na membrana basolateral das células epiteliais do ducto coletor na medula renal, no estômago, intestino, bexiga, epiderme, vias aéreas, eritrócitos, dentre outros), AQP9 (expressas no baço, fígado, cérebro, leucócitos e epidídimo) e AQP7, que são expressas nos túbulos proximais renais, músculo esquelético e abundantemente nos adipócitos (HARA-CHIKUMA; VERKMAN, 2006).

No tecido adiposo, a hidrólise dos TAG's ocorre pela ação da lipase hormônio sensível, havendo formação de ácidos graxos e glicerol, sendo este último um importante substrato para a gliconeogênese hepática (HARA-CHIKUMA; VERKMAN, 2006). A liberação do glicerol pelos adipócitos é carregada pela AQP7, sendo que, ratos knock-out para essa proteína apresentaram aumento na gordura corporal e hipertrofia progressiva de adipócitos. O mecanismo que explica esses resultados está relacionado à redução da permeabilidade da membrana ao glicerol (devido à ausência de AQP7), que leva ao aumento de glicerol-3-fosfato (G3P) e biossíntese de TAG's estimulados pela glicerol-quinase (GK) (HARA-CHIKUMA et al., 2005). A GK é uma enzima encontrada abundantemente nos tecidos renal e hepático (principais locais de metabolização do glicerol) e em menor quantidade em adipócitos, músculo esquelético e cardíaco. Essa enzima catalisa a reação de fosforilação do glicerol em G3P, que é um metabólito de função importante na conexão entre o metabolismo de carboidratos e lipídeos (BRISSON et al., 2001; LIN, 1977).

Quando proveniente da dieta, o glicerol é absorvido nas regiões gástricas e entéricas, sendo que, no intestino, essa absorção é maior e mais rápida (GOULET, 2009), envolvendo o transporte ativo secundário mediado por carreadores Na<sup>+</sup>-dependente (KATO et al., 2004). Após absorvido, o glicerol é transportado até o fígado, onde a AQP9 é responsável por seu influxo nos hepatócitos (CARBREY et al., 2003). Sua fosforilação hepática ocorre devido à ação da GK, havendo então a formação de G3P e, caso não ocorra essa reação, o glicerol é transportado para os rins (que, por sua vez, são responsáveis por cerca de 1/5 da capacidade de metabolização) e, posteriormente, excretado na urina (LIN, 1977). Nos rins, o glicerol é metabolizado principalmente nos túbulos contorcidos proximais (local onde há maior concentração da enzima GK nesse órgão), gerando glicose e lactato como produtos, mostrando assim a importância

desse órgão na metabolização do glicerol, em casos de dano hepático ou intoxicação (WIRTHENSOHN; VANDEWALLE; GUDER, 1981).

No tecido muscular e cardíaco, há poucos indícios de que o glicerol possa ser utilizado diretamente como substrato para produção de energia. No entanto, a captação do glicerol é facilitada pela AQP7, que é encontrada em pequenas quantidades no músculo esquelético, mostrando que essa substância é, de alguma forma, utilizada nesse tecido. Em camundongos com deficiência desta proteína foi observada adaptação miocárdica deteriorada, com alteração deletéria da função cardíaca (HIBUSE et al., 2009). No entanto, como a GK não é encontrada no tecido muscular, sugere-se que o glicerol possa ser metabolizado pela ação de uma enzima glicerol desidrogenase NADP-específica (TOEWS, 1966).

Assim, levando-se em consideração o tecido envolvido, bem como o estado nutricional do indivíduo, o destino metabólico do glicerol é direcionado para o fornecimento de esqueletos de carbono para a gliconeogênese, para a transferência íons hidrogênio, para a mitocôndria (havendo formação de 22 ATP), ou como precursor da síntese de TAG provenientes de ácidos graxos (MENTEN; MIYADA; BERENCHTEIN, 2011).

## **2.5 Glicerol como suplemento alimentar**

Devido às alterações no preço do milho e ao excesso de glicerol proveniente da produção do biodiesel, houve um aumento no interesse da utilização dessa substância para a formulação de rações para animais. Adicionalmente, o glicerol recebe o *status* GRAS (*Generally Recognized as Safe*), que é, de acordo com a legislação norte-americana, a classificação dada a produtos que são seguros para o consumo alimentar, inclusive para humanos (FOOD AND DRUG ADMINISTRATION - FDA, 2006).

Com relação à utilização de glicerol na formulação de rações ou como suplemento dietético, vários estudos têm investigado os efeitos dessa substância em animais de produção (BERENCHTEIN et al., 2010; LAGE et al., 2010; LAMMERS et al., 2008; LIMA et al., 2012; LOMANDER et al., 2012). Assim, Berenchtein et al. (2012) verificaram os efeitos de diferentes concentrações de glicerol na dieta, sobre a qualidade da carne, desempenho e características de carcaça de suínos da linhagem *Toppigs*. Esses autores concluíram que, embora a dieta com glicerol não tenha gerado alterações significativas sobre o desempenho e a qualidade da carne, não houve efeitos depressivos sobre as características de carcaça, e que, sendo assim, o glicerol pode participar em até 9 % na dieta desses animais nas fases de crescimento e terminação. Também em suínos, Lammers et al. (2008), observaram que a inclusão de até 10 % de glicerina bruta (com 84,51 % de glicerol) na dieta, não promoveu alterações no perfil de ácidos graxos bem como na frequência de lesões em tecidos oculares, renais e hepáticos, avaliadas por esses autores devido à presença de contaminantes como o metanol na glicerina utilizada. Adicionalmente, a utilização de 10 % de glicerol puro na dieta de suínos (DELLA CASA et al., 2009) e frangos (CERRATE et al., 2006) em substituição ao farelo de milho, reduziu o crescimento e consumo alimentar dos animais. No entanto, quando essa substituição foi de 5 % ou menos, não foram observadas alterações sobre esses parâmetros (CERRATE et al., 2006; DELLA CASA et al., 2009; TERRÉ et al., 2011).

Em ovinos foi verificado que o ganho de peso e a ingestão alimentar diminuíram à medida que a quantidade de glicerol (inclusão de 3 %, 6 %, 9 % e 12 % de glicerina bruta, com 36,2 % de glicerol) foi aumentada na dieta (LAGE et al., 2010). Por outro lado, Abdalla et al. (2008), consideram que produtos provenientes dos resíduos da produção do biodiesel, como o glicerol, possuem características nutricionais adequadas para a sua inserção na dieta de ruminantes.



Dessa forma, é necessária uma melhor compreensão da relação entre a pureza e quantidade do glicerol como fonte de energia, de forma a permitir a formulação de dietas equilibradas, para que então ocorra melhoria no desempenho de animais de produção (ALVARENGA et al., 2012).

Em roedores, foi observado que ratos que consumiram ração, onde carboidratos foram substituídos por glicerol (50,0 % de glicerol na composição), apresentaram menor ingestão alimentar e taxa mais lenta de crescimento. Além disso, foi verificado aumento do peso relativo de rins e fígado, devido às adaptações metabólicas, como aumento na gliconeogênese hepática e maior taxa de produção urinária (CRYER; BATLEY, 1973). Lin, Romsos e Leveille (1976) observaram que uma dieta com glicerol, correspondendo à 22 % do valor energético, não alterou a taxa de crescimento, enquanto que, quando o valor energético foi de 43 %, houve diminuição no consumo alimentar assim como na taxa de crescimento dos animais. Resultados semelhantes foram encontrados em ratos saudáveis que consumiram (por sete dias) 1g de glicerol por Kg de peso corporal e para animais geneticamente obesos que consumiram 1g e 2g de glicerol por Kg de peso, durante respectivamente, cinco e quatro dias (GRINKER et al., 1980).

O consumo voluntário de solução 0,3 M de glicerol foi maior em ratos com diabetes experimental induzida em comparação aos animais não diabéticos, sendo que, nos diabéticos houve diminuição no consumo alimentar, havendo menor ganho de peso em comparação ao grupo controle (BRIEF; DAVIS, 1982b). Animais diabéticos têm sua palatabilidade alterada, demonstrando maior preferência por substâncias adocicadas, dentre elas o glicerol (BRIEF; DAVIS, 1982a). Dessa forma, a diminuição na ingestão alimentar foi relacionada à maior palatabilidade ao glicerol, que forneceu mais energia aos animais (BRIEF; DAVIS, 1982b). Ademais, em vários estudos verificaram-se efeitos inibitórios da fome, com conseqüente diminuição do ganho de peso em roedores que

tiveram glicerol administrado, via subcutânea (GRINKER et al., 1980; LANGHANS; DAMASKE; SCHARRER, 1984; LANGHANS; WIESENREITER; SCHARRER, 1983; WIRTSHAFTER; DAVIS, 1977), intragástrica (GLICK, 1980) e intracerebroventricular (DAVIS et al., 1981). No entanto, existem resultados controversos (RAMIREZ; FRIEDMAN, 1982), indicando que o efeito anorexigênico do glicerol é dose dependente.

Hartmann et al. (2010) investigaram o comportamento da recuperação glicêmica pós-injeção de insulina em ratos que receberam 100 mg/kg de glicerol. Esses autores verificaram um aumento na disponibilidade de substratos gliconeogênicos (glicose) no sangue coletado na veia porta, indicando que essa substância é eficiente para manutenção da glicemia após injeção de insulina.

Em humanos, a ingestão de 7,5 gramas de glicerol 20 minutos antes de uma refeição reduziu em 10 % o consumo de energia, quando comparado à ingestão de uma solução isocalórica de glicose (BJÖRVELL; RÖSSNER, 1982). Além disso, foi verificado por Zanoboni, Schwarz e Zanoboni-Muciaccia (1976), que o comportamento da curva glicêmica não diferiu entre indivíduos que consumiram soluções de glicose ou glicerol (1 g/kg corporal), sendo observado que, os picos de insulina alcançaram valores 150 % maiores quando houve consumo do glicerol.

Devido aos resultados contraditórios observados na literatura acerca dos efeitos do glicerol sobre alterações no peso e consumo alimentar, maiores investigações são necessárias para elucidar tais efeitos. Adicionalmente, alguns aspectos como, pureza, dose e tempo de consumo devem ser considerados antes de se utilizar o glicerol como suplemento, devido à possibilidade de haver efeitos colaterais do uso indiscriminado dessa substância (HSE, 1997).

## 2.6 Exercício Físico

A atividade física é caracterizada como qualquer movimento corporal, mediado por músculos esqueléticos, que culmina em gasto energético. Nesse sentido, o exercício físico é definido como uma atividade física estruturada, planejada e repetitiva cujo propósito é a manutenção ou melhoria das capacidades físicas (CASPERSEN; POWEL; CHRISTENSON, 1985).

A classificação quanto ao tipo de exercício físico está relacionada com a via bioenergética utilizada para produção de energia, podendo haver predomínio do metabolismo oxidativo, caracterizando assim o tipo de exercício aeróbio, ou pode ocorrer predominância do metabolismo glicolítico láctico ou alático, que caracteriza o exercício como anaeróbio (DOMICIANO et al., 2010). O fator determinante para a via energética a ser utilizada durante o exercício é o tempo e a intensidade, sendo que exercícios de curta duração e alta intensidade culminam em vias metabólicas glicolíticas lácticas, e exercícios de longa duração e baixa intensidade utilizam em maior parte, a energia fornecida pelo metabolismo oxidativo (MCARDLE; KATCH; KATCH, 2003). Ademais, existem classificações de intensidades de exercício que variam de acordo com o gasto calórico total, tais como: intensidade leve, moderada e intensa (CASPERSEN; POWEL; CHRISTENSON, 1985). Com relação à mobilização de substratos energéticos em exercícios na intensidade moderada, considera-se que o gasto energético é proveniente principalmente do metabolismo de lipídeos, seguido por mobilização de carboidratos e proteínas (BOTEZELLI et al., 2011).

Durante o exercício físico, o organismo é retirado de sua homeostase, já que ocorre um aumento imediato na demanda energética, com finalidade de suprir as necessidades metabólicas da musculatura que está sendo ativada, tornando necessárias diversas adaptações fisiológicas (cardiovasculares, hormonais e metabólicas) para suprir essa demanda (BRUM et al., 2004). Tais

adaptações têm sido estudadas em diferentes espécies de animais, como cães (BAUER et al., 2005), equinos (GOMIDE et al., 2006) e roedores (LEMOS et al., 2011).

Para roedores, diversos são os protocolos de exercício físico utilizados, variando desde corrida forçada em esteira (RODRIGUES et al., 2007), exercícios resistidos em meio aquático (BOTEZELLI et al., 2011), e natação (NARATTAPHOL et al., 2011). Assim, protocolos de natação em modelo animal são amplamente utilizados devido ao fato de essa ser uma habilidade inata em ratos, além do fato de que a adaptação desses animais ao treinamento é semelhante ao que ocorre com seres humanos (LIMA et al., 2009). Dessa forma, o emprego de treinamento em modelo animal constitui uma ferramenta útil na investigação de aspectos fisiológicos, metabólicos e imunológicos que podem ser extrapolados para humanos (WANG; WISLOFF; KEMI, 2010).

## **2.7 Exercício Físico e Glicerol**

O interesse na utilização do glicerol como componente da dieta, principalmente de animais de produção, é devido ao fato de esse ser um produto rico em energia (aproximadamente 4.320 kcal de energia bruta por kg de glicerol puro) e com alta eficiência de utilização (BERENCHTEIN et al., 2010). Adicionalmente, estudos têm investigado sua função como regulador de fluidos corporais durante jejum hídrico (MAUGHAN; SHIRREFFS, 2012) ou exercício físico (KAVOURAS et al., 2006; KOEHLER et al., 2013; PATLAR; YALÇIN; BOYALI, 2012; SCHOTT; PATTERSON; EBERHART, 2001).

Assim, quando relacionado ao exercício físico, o glicerol tem sido utilizado como hiper-hidratante para animais atletas, como é o caso de cavalos (DÜSTERDIECK et al., 1999; SCHOTT; PATTERSON; EBERHART, 2001) e cães (REYNOLDS; SNEDDON; REINHAN, 2012), assim como para humanos

praticantes de exercícios físicos (DINI et al., 2007; KOEHLER et al., 2013; MAGAL et al., 2003). Diversos estudos vêm investigando os efeitos do glicerol sobre indivíduos praticantes de exercícios físicos (atletas humanos e animais) (DINI et al., 2007; MILLER et al., 1983; REYNOLDS; SNEDDON; REINHAN, 2012; ROSENDAL et al., 2012; SCHOTT et al., 1999; SCHOTT; PATTERSON; EBERHART, 2001; TERBLANCHE et al., 1981).

A ingestão de glicerol pode induzir hiper-hidratação, o que, em ambientes com altas temperaturas, resulta em uma maior retenção de fluidos, quando comparado com a ingestão apenas de água. Tal fato é relacionado à sua rápida absorção e atividade osmótica que, no trato renal promove reabsorção de glicerol e água (O'BRIEN et al., 2005).

Em estudo realizado com triatletas que consumiram bebidas contendo 1,2 g de glicerol por kg de peso corporal, Coutts et al. (2002) observaram melhora na performance em provas realizadas em dia quente, redução na diurese e aumento na retenção de líquidos corporais em comparação aos indivíduos do grupo placebo. Tais resultados levaram os autores a concluir que soluções contendo glicerol causam benefícios ergogênicos em exercícios de prolongados, de alta intensidade e em altas temperaturas.

O consumo de bebidas contendo 1,2 gramas de glicerol por kg de massa corpórea melhorou a *performance* de atletas de futebol submetidos a testes de potência anaeróbia e aeróbia (PATLAR; YALÇIN; BOYALI, 2012). Assim, segundo esses autores, o efeito ergogênico do glicerol em atividades anaeróbias deve-se à sua ação gliconeogênica que, devido ao aumento na disponibilidade de substratos energéticos, fornece energia suficiente durante atividades intensas.

Em cavalos atletas submetidos a 60 Km de corrida em esteira, a administração de bebidas contendo glicerol não provocou melhoras significativas quanto à *performance* física, quando comparados aos resultados da ingestão de bebidas ricas em eletrólitos. No entanto, em ambos os tratamentos

houve aumento de volume plasmático nas fases posteriores ao exercício (DUSTERDIECK et al., 1999).

Schott et al. (1999) observaram que cavalos suplementados com bebidas à base de glicerol, quando submetidos a corrida de 60 km, apresentaram valores mais elevados na pressão osmótica e maior concentração plasmática de cloreto de potássio após sessenta minutos de término do exercício. Tal fato foi relacionado à menor ingestão de água, devido ao aumento na reabsorção renal de água e consequente efeito hiper-hidratante.

Reynolds, Sneddon e Reinhan (2012) afirmaram que a ingestão de soluções contendo glicerol pode ser considerada uma maneira segura e efetiva de induzir um estado de hiper-hidratação em cães, não causando efeitos deletérios no trato gastrointestinal, renal ou função muscular. Dessa maneira, segundo esses autores, o glicerol ajuda a manter a hidratação quando se realiza exercícios físicos em condições ambientais extremas, como em altas temperaturas e baixa umidade.

Assim, de acordo com os estudos supracitados, o glicerol provoca melhoria na *performance* física de atletas e praticantes de exercícios físicos. No entanto, alguns estudos contradizem esses efeitos, mostrando não haver diferença no desempenho físico em indivíduos que consumiram glicerol (PENSE; TURNAGÖL, 2011; ROSS et al., 2012). Dessa forma, mais estudos são necessários para elucidar o comportamento de parâmetros metabólicos e fisiológicos em indivíduos submetidos a treinamento físico e suplementados cronicamente com glicerol.

### **3 CONSIDERAÇÕES FINAIS**

De acordo com o exposto, observa-se que, grande parte dos estudos que investigam a suplementação com glicerol durante o treinamento físico avaliam

os efeitos dessa substância principalmente em sessões agudas de exercício, em que são analisados apenas os efeitos sobre a hidratação dos indivíduos. Assim, visto que se trata de uma substância que pode influenciar o consumo alimentar e ganho de peso corporal, torna-se necessário investigar as consequências do consumo de glicerol concomitante ao treinamento físico sobre esses parâmetros, bem como de parâmetros metabólicos. Além disso, o glicerol pode promover melhorias no desempenho físico que estão além de seus efeitos osmóticos, já que essa substância possui propriedades energéticas e gliconeogênicas.

## REFERÊNCIAS

- ABDALLA, A. L. et al. Utilização de subprodutos da indústria de biodiesel na alimentação de ruminantes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 37, p. 260-268, 2008. Suplemento especial.
- AJDUKIEWICZ, K. M. B. et al. Glycerol adjuvant therapy in adults with bacterial meningitis in a high HIV seroprevalence setting in Malawi: a double-blind, randomised controlled trial. **The Lancet: Infectious Diseases**, London, v. 11, n. 4, p. 293-300, 2011.
- ALVARENGA, R. R. et al. Use of glycerine in poultry diets. **World's Poultry Science Journal**, Ithaca, v. 68, n. 4, p. 637-644, 2012.
- ARRUDA, P. V.; RODRIGUES, R. C. L. B.; FELIPE, M. G. A. Glicerol: um subproduto com grande capacidade industrial e metabólica. **Revista Analytica**, Rio de Janeiro, v. 26, n. 1, p. 56-62, 2007.
- BAUER, N. et al. Exercise in humans and dogs: effects of  $\beta$ -blockade and angiotensin-converting enzyme inhibition. **Hypertension**, Dallas, v. 45, n. 5, p. 1024-1028, Apr. 2005.
- BERENCHTEIN, B. et al. Utilização de glicerol na dieta de suínos em crescimento e terminação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 39, n. 7, p. 1491-1496, 2010.
- BJÖRVELL, H.; RÖSSNER, S. Effects of oral glycerol on food intake in man. **American Journal of Clinical Nutrition**, New York, v. 36, n. 2, p. 262-265, 1982.
- BOTEZELLI, J. D. et al. Different exercise protocols improve metabolic syndrome markers, tissue triglycerides content and antioxidant status in rats. **Diabetology & Metabolic Syndrome**, London, v. 3, n. 35, p. 1-8, 2011.



BRIEF, D. J.; DAVIS, J. D. Diabetes enhances the palatability of glycerol and glucose. **Physiology and Behavior**, New York, v. 29, n. 3, p. 561-566, 1982a.

BRIEF, D. J.; DAVIS, J. D. Glycerol reduces food intake in diabetic rats. **Physiology and Behavior**, New York, v. 29, n. 4, p. 577-580, 1982b.

BRISSON, D. et al. Glycerol: a neglected variable in metabolic processes? **Bioessays**, Cambridge, v. 23, n. 6, p. 534-542, 2001.

BRUM, P. C. et al. Adaptações agudas e crônicas do exercício físico no sistema cardiovascular. **Revista Paulista de Educação Física**, São Paulo, v. 18, p. 21-31, 2004. Número especial.

CARBREY, J. M. et al. Aquaglyceroporin AQP9: solute permeation and metabolic control of expression in liver. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v. 100, n. 5, p. 2945-2950, 2003.

CASPERSEN, C. J.; POWEL, K. E.; CHRISTENSON, G. M. Physical activity, exercise, and physical fitness: definitions and distinctions for health-related research. **Public Health Reports**, Rockville, v. 100, n. 2, p. 126-131, 1985.

CERRATE, S. et al. Evaluation of glycerine from biodiesel production as a feed ingredient for broilers. **International Journal of Poultry Science**, Faisalabad, v. 5, n. 11, p. 1001-1007, 2006.

CONSELHO EMPRESARIAL BRASILEIRO PARA O  
DESENVOLVIMENTO SUSTENTÁVEL. **Biocombustíveis e mudanças  
climáticas: interfaces e potencialidades**. Rio de Janeiro: COPPE-UFRJ, 2008.  
41 p.

COUTTS, A. et al. The effect of glycerol hyperhydration on olympic distance triathlon performance in high ambient temperatures. **International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism**, Champaign, v. 12, n. 1, p. 105-119, 2002.

CRYER, A.; BARTLEY, W. Studies on the adaptation of rats to a diet high in glycerol. **International Journal of Biochemistry**, Oxford, v. 4, n. 21, p. 293-308, 1973.

DASARI, M. Crude glycerol potential described. **Feedstuffs**, Minnetonka, v. 79, n. 43, p. 1-3, 2007.

DAVIS, J. D. et al. Sustained intracerebroventricular infusion of brain fuels reduces body weight and food intake in rats. **Science**, New York, v. 212, n. 4490, p. 81-83, 1981.

DELATORRE, A. B. et al. Produção do biodiesel: considerações sobre as diferentes matérias-primas e rotas tecnológicas de processos. **Perspectivas Online**, Campos dos Goytacases, v. 1, n. 1, p. 21-47, 2011.

DELLA CASA, G. et al. Use of pure glycerol in fattening heavy pigs. **Meat Science**, Barking, v. 81, n. 1, p. 238-244, 2009.

DINI, M. et al. Hyperhydrating with glycerol: effects on thermoregulation, hydration and athletic performance during specific exergonic exercise in a warm-humid environment. **Sport Sciences for Health**, New York, v. 2, n. 1, p. 1-7, 2007.

DOMICIANO, A. M. O. et al. Treinamento aeróbio e anaeróbio: uma revisão. **UNINGÁ Review**, Maringá, v. 1, n. 3, p. 71-80, 2010.

DÜSTERDIECK, K. F. et al. Electrolyte and glycerol supplementation improve water intake by horses performing a stimulated 60km endurance ride. **Equine Veterinary Journal**, London, v. 31, n. 30, p. 418-424, 1999.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. **Code of federal regulations:** substances generally recognized as safe: general purpose food additives-glycerin. Washington, 2006. Disponível em: <[http://edocket.access.gpo.gov/cfr\\_2002/aprqtr/21cfr582.1320.htm](http://edocket.access.gpo.gov/cfr_2002/aprqtr/21cfr582.1320.htm)>. Acesso em: 30 nov. 2011.

GERPEN, J. van et al. **Biodiesel production technology**. Washington: National Renewable Energy Laboratory, 2004. Disponível em: <<http://www.nrel.gov/docs/fy04osti/36244.pdf>>. Acesso em: 26 nov. 2011.

GLEESON, M.; MAUGHAN, R. J.; GREENHAFF, P. L. Comparison of the effects of pre-exercise feeding of glucose, glycerol and placebo on endurance and fuel homeostasis in man. **European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology**, Berlin, v. 55, n. 6, p. 645-653, Dec. 1986.

GLICK, Z. Food intake of rats administered with glycerol. **Physiology and Behavior**, New York, v. 25, n. 5, p. 621-626, 1980.

GOLDEMBERG, J. Pesquisa e desenvolvimento na área de energia. **São Paulo em Perspectiva**, São Paulo, v. 14, n. 3, p. 91-97, 2000.

GOMIDE, L. M. W. et al. Concentrações sanguíneas de lactato em equinos durante prova de fundo do concurso completo de equitação. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 2, p. 509-513, mar./abr. 2006.

GOULET, E. D. B. Review of the effects of glycerol-containing hyperhydration solutions on gastric emptying and intestinal absorption in humans and in rats. **International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism**, Champaign, v. 19, n. 5, p. 547-560, 2009.

GRINKER, J. et al. The effect of the metabolite glycerol on food intake and body weight in rats. **Brain Research Bulletin**, New York, v. 5, n. 4, p. 29-35, 1980. Supplement.

HÄGNEVIK, K. et al. Glycerol-induced haemolysis with haemoglobinuria and acute renal failure: report of three cases. **Lancet**, London, v. 1, n. 7847, p. 75-77, 1974.

HAGOPIAN, K.; RAMSEY, J. J.; WEINDRUCH, R. Enzymes of glycerol and glyceraldehyde metabolism in mouse liver: effects of caloric restriction and age on activities. **Bioscience Reports**, Colchester, v. 28, n. 2, p. 107-115, 2008.

HARA-CHIKUMA, M. et al. Progressive adipocyte hypertrophy in aquaporin-7-deficient mice: adipocyte glycerol permeability as a novel regulator of fat accumulation. **The Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, v. 280, n. 16, p. 15493-15496, 2005.

HARA-CHIKUMA, M.; VERKMAN, A. S. Physiological roles of glycerol-transporting aquaporins: the aquaglyceroporins. **Cellular and Molecular Life Sciences**, Basel, v. 63, n. 12, p. 1386-1392, 2006.

HARTMANN, E. M. et al. Investigation of glycemia recovery with oral administration of glycerol, pyruvate, and L-lactate during long-term, insulin-induced hypoglycemia. **Journal of Diabetes and its Complications**, New York, v. 25, n. 5, p. 301-305, 2010.

HAYES, J. M. et al. Resistance to glycerol induced hemoglobinuric acute renal failure. **Nephron**, Basel, v. 7, n. 2, p. 155-164, 1970.

HEALTH AND SAFETY EXECUTIVE. **Consulting and sampling, inc. literature review for glycerol and glycols for entertainment services and technology association**. Omaha, 1997. 32 p.

HIBUSE, T. et al. The heart requires glycerol as an energy substrate through aquaporin 7, a glycerol facilitator. **Cardiovascular Research**, Philadelphia, v. 83, n. 1, p. 34-41, 2009.

HWANG, Y. W.; YUN, H. I. Effects of acute hepatic and renal failure on pharmacokinetics of flunixin meglumine in rats. **Experimental Animals**, Tokyo, v. 60, n. 2, p. 187-191, 2011.

KATO, T. et al. Functional characterization of the carrier-mediated transport system for glycerol in everted sacs of the rat small intestine. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, Tokyo, v. 27, n. 11, p. 1826-1830, 2004.

KAVOURAS, S. A. et al. Rehydration with glycerol: endocrine, cardiovascular and thermoregulatory responses during exercise in the heat. **Journal of Applied Physiology**, Heidelberg, v. 100, n. 2, p. 442-450, 2006.

KOEHLER, K. et al. Glycerol administration before endurance exercise: metabolism, urinary glycerol excretion and effects on doping-relevant blood parameters. **Drug Testing and Analysis**, New York, Jan. 2013. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23359436>>. Acesso em: 10 nov. 2013.

LAGE, J. F. et al. Glicerina bruta na dieta de cordeiros terminados em confinamento. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 45, n. 9, p. 1012-1020, set. 2010.

LAMMERS, P. et al. Growth performance, carcass characteristics, meat quality, and tissue histology of growing pigs fed crude glycerin: supplemented diets. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 86, n. 11, p. 2962-2970, Nov. 2008.

LANGHANS, W.; DAMASKE, U.; SCHARRER, E. Subcutaneous glycerol injection fails to reduce food intake in rats fed a high protein diet. **Physiology and Behavior**, New York, v. 32, n. 5, p. 785-789, 1984.

LANGHANS, W.; WIESENREITER, F.; SCHARRER, E. Increases in plasma glycerol levels precede the hypophagia following subcutaneous glycerol injection in rats. **Physiology and Behavior**, New York, v. 30, n. 3, p. 421-424, 1983.

LEMOS, E. T. et al. Differential effects of acute (extenuating) and chronic (training) exercise on inflammation and oxidative stress etatus in an animal model of type 2 diabetes mellitus. **Mediators of Inflammation**, Sylvania, v. 2011, p. 1-8, 2011.

LIMA, E. M. C. et al. The energy value of biodiesel glycerine products fed to broilers at different ages. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, Berlin, Aug. 2012. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22882138>>. Acesso em: 10 nov. 2013.

LIMA, F. D. et al. Adaptation to oxidative challenge induced by chronic physical exercise prevents Na<sup>+</sup>, k<sup>+</sup>-ATPase activity inhibition after traumatic brain injury. **Brain Research**, Amsterdam, n. 1297, p. 147-155, 2009.

LIN, E. C. C. Glycerol utilization and its regulation in mammals. **Annual Review of Biochemistry**, Palo Alto, v. 46, p. 765-795, 1977.

LIN, M. G.; ROMSOS, D. R.; LEVEILLE, G. A. Effect of glycerol on lipogenic enzyme activities and on fatty acid synthesis in the rat and chicken. **The Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 106, n. 11, p. 1668-1677, 1976.

LIONS, T. P.; RIEDESEL, M. L. Glycerol-induced hyperhydration: its effects on fluids compartments in the rat. **Life Sciences**, Varsovia, v. 53, n. 23, p. 1779-1787, 1993.

LOCHHEAD, K. M.; KHARASCH, E. D.; ZAGER, R. A. Anesthetic effects on the glycerol model of rhabdomyolysis-induced acute renal failure in rats. **Journal of the American Society of Nephrology**, Hagerstown, v. 9, n. 2, p. 305-309, 1998.

LOMANDER, H. et al. Supplemental feeding with glycerol or propylene glycol of dairy cows in early lactation-effects on metabolic status, body condition, and milk yield. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 95, n. 5, p. 2397-2408, May 2012.

MACLAREN, N. K. et al. Glycerol intolerance in a child with intermittent hypoglycemia. **The Journal of Pediatrics**, Cincinnati, v. 86, n. 1, p. 43-49, 1975.

MAGAL, M. et al. Comparison of glycerol and water hydration regimens on tennis-related performance. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, Hagerstown, v. 35, n. 1, p. 150-156, 2003.

MARINO, F. E.; KAY, D.; CANNON, J. Glycerol hyperhydration fails to improve endurance performance and thermoregulation in humans in a warm humid environment. **Pflügers Archiv: European Journal of Physiology**, Berlin, v. 446, n. 4, p. 455-462, 2003.

MARTIM, E. C. O. et al. Lesão renal aguda por glicerol: efeito antioxidante da *Vitis vinifera* L. **Revista Brasileira de Terapia Intensiva**, Rio de Janeiro, v. 19, n. 3, p. 292-296, 2007.

MAUGHAN, R. J.; SHIRREFS, S. M. Hydration and performance during Ramadan. **Journal of Sports Sciences**, London, v. 30, n. 1, p. S33-S41, 2012. Supplement.

MCARDLE, W. D.; KATCH, F. I.; KATCH, V. L. **Fisiologia do exercício: energia, nutrição e desempenho humano**. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003. 179 p.

MENTEN, J. F. M.; MIYADA, V. S.; BERENCHTEIN, B. **Glicerol na alimentação animal**. Disponível em: <[http://www.agrolink.com.br/downloads/glicerol\\_2009-03-13.pdf](http://www.agrolink.com.br/downloads/glicerol_2009-03-13.pdf)>. Acesso em: 3 dez. 2011.

MILLER, J. M. et al. Effect of glycerol feeding on endurance and metabolism during prolonged exercise in man. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, Hagerstown, v. 15, n. 3, p. 237-242, 1983.

MOTA, C. J. A.; SILVA, C. X. A.; GONÇALVES, V. L. C. Gliceroquímica: novos produtos e processos a partir da glicerina de produção de biodiesel. **Química Nova**, São Paulo, v. 32, n. 3, p. 639-648, maio/jun. 2009.

NARATTAPHOL, C. et al. Long-term swimming in an inescapable stressful environment attenuates the stimulatory effect of endurance swimming on duodenal calcium absorption in rats. **Journal of Physiological Sciences**, London, v. 61, n. 6, p. 473-486, Aug. 2011.

NATH, K. A. et al. Renal response to repetitive exposure to heme proteins: chronic injury induced by an acute insult. **Kidney International**, Malden, v. 57, n. 6, p. 2423-2433, 2000.

NELSON, J. L.; HARMON, M. E.; ROBERGS, R. A. Identifying plasma glycerol concentration associated with urinary glycerol excretion in trained humans. **Journal of Analytical Toxicology**, Niles, v. 35, n. 9, p. 617-623, 2011.

O'BRIEN, C. et al. Glycerol hyperhydration: physiological responses during cold-air exposure. **Journal of Applied Physiology**, Bethesda, v. 99, n. 2, p. 515-521, 2005.



OFRI, R. Intraocular pressure and glaucoma. **Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice**, Oxford, v. 5, n. 2, p. 391-406, 2002.

OOI, T. L. et al. Glycerol residue: a rich source of glycerol and medium chain fatty acids. **Journal of Oleo Science**, Tokyo, v. 53, n. 1, p. 29-33, 2004.

PARENTE, E. J. S. **Biodiesel**: uma aventura tecnológica num país engraçado. Fortaleza: Tecbio, 2003. 68 p.

PATLAR, S.; YALÇIN, H.; BOYALI, E. The effect of glycerol supplements on aerobic and anaerobic performance of athletes and sedentary subjects. **Journal of Human Kinetics**, Katowice, v. 34, n. 1, p. 69-79, 2012.

PELTOLA, H. et al. Adjuvant glycerol and/or dexamethasone to improve the outcomes of childhood bacterial meningitis: a prospective, randomized, double-blind, placebo-controlled trial. **Clinical Infectious Diseases**, Chicago, v. 45, n. 10, p. 1277-1286, 2007.

PENSE, M.; TURNAGÖL, H. Effects of glycerol-induced hyperhydration on cardiovascular functions and endurance performance in athletes during the course of treadmill exercise performed at high temperatures. **World Applied Sciences Journal**, Dubai, v. 12, n. 7, p. 1114-1124, 2011.

RAMIREZ, I.; FRIEDMAN, M. I. Glycerol is not a physiologic signal in the control of food intake in rats. **Physiology and Behavior**, New York, v. 29, n. 5, p. 921-925, 1982.

REYNOLDS, A. J.; SNEDDON, K.; REINHAN, G. A. **Hydration strategies for exercising dogs**. Disponível em:  
<[http://www.hydrolyte.us/ArleighReynolds-Hydration Strategies.pdf](http://www.hydrolyte.us/ArleighReynolds-Hydration%20Strategies.pdf)>. Acesso em: 19 abr. 2012.

RIEGER, E. et al. Intraperitoneal glycerol induces oxidative stress in rat kidney. **Clinical and Experimental Pharmacology & Physiology**, Carlton, v. 35, n. 8, p. 928-933, 2008.

RIVALDI, J. D. et al. Glycerol of biodiesel: biotechnological strategy for glycerol in biodiesel production. **Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento**, Brasília, v. 10, n. 37, p. 44-51, 2008.

RODRIGUES, B. et al. Maximal exercise test is a useful method for physical capacity and oxygen consumption determination in streptozotocin-diabetic rats. **Cardiovascular Diabetology**, London, v. 6, n. 38, p. 1-7, 2007.

ROSENDAL, S. P. et al. Performance benefits of rehydration with intravenous fluid and oral glycerol. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, Hagerstown, v. 44, n. 9, p. 1780-1790, 2012.

ROSS, M. L. et al. Effects of lowering body temperature via hyperhydration, with and without glycerol ingestion and practical precooling on cycling time trial performance in hot and humid conditions. **Journal of the International Society of Sports Nutrition**, London, v. 9, n. 1, p. 1-11, 2012.

SCHOTT, H. C. et al. Effects of electrolyte and glycerol supplementation on recovery from endurance exercise. **Equine Veterinary Journal Supplement**, London, v. 31, n. 30, p. 384-393, 1999.

SCHOTT, H. C.; PATTERSON, K. S.; EBERHART, S. W. Glycerol hyperhydration in resting horses. **Veterinary Journal**, London, v. 161, n. 2, p. 194-204, 2001.

SINGHI, S.; JÄRVINEN, A.; PELTOLA, H. Increase in serum osmolality is possible mechanism for the beneficial effects of glycerol in childhood bacterial meningitis. **The Pediatric Infectious Disease Journal**, Baltimore, v. 27, n. 10, p. 892-896, 2008.

SOUZA, N. A. F. et al. Uso de biomassa para produção energética. In: JORNADA DE ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO, 10., 2010, Recife. **Anais...** Recife: UFRPE, 2010. Disponível em: <<http://www.sigeventos.com.br/jepex/inscricao/resumos/0001/r1688-1.pdf>>. Acesso em: 6 dez. 2012.

TERBLANCHE, S. E. et al. Effects of glycerol feeding before and after exhausting exercise in rats. **Journal of Applied Physiology**, Bethesda, v. 50, n. 1, p. 94-101, 1981.

TERRÉ, M. et al. The use of glycerine in rations for light lamb during the fattening period. **Animal Feed Science Technology**, Amsterdam, v. 164, n. 3/4, p. 262-267, 2011.

THORNIT, D. N. et al. The effects of peroral glycerol on plasma osmolarity in diabetic patients and healthy individuals. **Basic and Clinical Pharmacology and Toxicology**, Copenhagen, v. 105, n. 5, p. 289-293, 2009.

TOEWS, C. J. Evidence for the metabolism of glycerol by skeletal muscle and the presence of a muscle nicotinamide-adenine dinucleotide phosphate-dependent glycerol dehydrogenase. **Biochemistry Journal**, Bethesda, v. 98, n. 3, p. 27C-29C, 1966.

VICENTE, G. et al. Acetalisation of bio-glycerol with acetone to produce solketal over sulfonic mesostructured silicas. **Green Chemistry**, Cambridge, v. 12, n. 5, p. 899-907, 2010.

WANG, Y.; WISLOFF, U.; KEMI, O. J. Animal models in the study of exercise-induced cardiac hypertrophy. **Physiological Research**, Praha, v. 59, n. 5, p. 633-644, 2010.

WASSERMAN, N. T. et al. Effects of oral isosorbide and glycerol on intraocular pressure, serum osmolality, and blood glucose in normal dogs. **Veterinary Ophthalmology**, New York, v. 16, n. 1, p. 20-24, 2013.

WHITLOCK, G. P.; GUERRANT, N. B.; DUTCHER, R. A. Response of rats to diets containing propylene glycol and glycerol. **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine**, New York, v. 57, n. 1, p. 124-125, 1944.

WIRTHENSOHN, G.; VANDEWALLE, A.; GUDER, W. G. Renal glycerol metabolism and the distribution of glycerol kinase in rabbit nephron. **The Biochemical Journal**, London, v. 183, n. 3, p. 543-549, 1981.

WIRTSHAFTER, D.; DAVIS, J. D. Body weight: reduction by long-term glycerol treatment. **Science**, New York, v. 198, n. 4323, p. 1271-1274, 1977.

ZANOBONI, A.; SCHWARZ, D.; ZANOBONI-MUCIACCIA, W. Stimulation of insulin secretion in man by oral glycerol administration. **Metabolism: Clinical and Experimental**, London, v. 25, n. 1, p. 41-45, 1976.

**SEGUNDA PARTE – ARTIGOS**

**ARTIGO 1 Efeitos metabólicos da associação de glicerol na dieta e  
treinamento físico aeróbio em ratos wistar**

Este artigo foi redigido de acordo com as normas para submissão na  
revista *Acta Physiologica*.

**Efeitos metabólicos da associação de glicerol na dieta e treinamento físico  
aeróbio em ratos wistar**

**Glicerol na dieta e treinamento aeróbio em ratos**

Eric Francelino Andrade<sup>1\*</sup>; Raquel Vieira Lobato<sup>1</sup>; Ticiania Vasques de Araújo<sup>1</sup>;  
Débora Ribeiro Orlando<sup>1</sup>; Núbia Ferreira Gomes<sup>1</sup>; Renata Ribeiro Alvarenga<sup>2</sup>;  
Gustavo Puggina Rogatto<sup>3</sup>; Márcio Gilberto Zangerônimo<sup>1</sup>; Luciano José  
Pereira<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Lavras,  
Lavras Brasil.

<sup>2</sup> Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Lavras, Lavras Brasil.

<sup>3</sup> Departamento de Educação Física, Universidade Federal de Lavras, Lavras  
Brasil.

\* Autor Correspondente: Eric Francelino Andrade, Departamento de Medicina  
Veterinária - Setor de Fisiologia e Farmacologia – Universidade Federal de  
Lavras – UFLA, Caixa Postal 3037 – Campus Universitário – Lavras, Minas  
Gerais, Brasil.

E-mail: ericfrancelinoandrade@gmail.com

**RESUMO**

**OBJETIVO:** Avaliar os efeitos da suplementação com glicerol na dieta de ratos submetidos a treinamento.

**MÉTODOS:** Foram utilizados 30 ratos machos adultos da linhagem *Wistar*, que foram distribuídos em delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 2x3 (com ou sem exercício e três substratos – glicose, glicerol e salina). Os animais foram submetidos a seis semanas de treinamento físico aeróbio em meio aquático com carga relativa a 5 % do peso corporal. Nas quatro últimas semanas de experimento, os animais foram suplementados com um dos substratos de acordo com o grupo por via oral através de gavagem. Foram avaliados os parâmetros de consumo, excreção e variação de peso, bem como análises bioquímicas sanguíneas e histológicas de fígado, rim, estômago, intestino delgado e tecido adiposo epididimário. Os dados foram submetidos à Análise de Variância (ANAVA) e as médias comparadas pelo teste SNK a 5 %.

**RESULTADOS:** A variação do peso corporal foi menor nos grupos treinados. Por outro lado, o consumo alimentar e hídrico foram superiores nos grupos submetidos a treinamento em relação aos grupos não-treinados. Quando isolada, a suplementação com glicerol provocou aumento nos níveis de triacilgliceróis (TAG), colesterol total, bem como na área e diâmetro de adipócitos. Porém, quando associada ao treinamento estes parâmetros foram semelhantes aos dos demais grupos treinados. Os níveis de LDL + VLDL-C diminuíram nos animais

treinados que receberam glicerol em relação aos não treinados assim como em relação aos treinados que receberam glicose. A suplementação com glicerol tanto isolada como associada ao treinamento provocou diminuição no consumo alimentar e aumentou a relação vilosidade/cripta intestinais. Não foram observadas alterações histopatológicas renais ou hepáticas nem alterações no peso relativo destes órgãos independente do treinamento ou da dieta. Adicionalmente, não foram observadas alterações na glicemia, HDL-C, volume urinário e densidade de adipócitos.

**CONCLUSÃO:** A suplementação com glicerol associada à atividade física aeróbia moderada promoveu efeitos metabólicos benéficos. No entanto, o consumo isolado com glicerol isoladamente aumentou a área e o diâmetro de adipócitos, bem como os níveis de TAG e colesterol total.

**Palavras-chave:** Glicerina; nutrição; atividade física; suplementação; metabolismo; modelo animal.



**ABSTRACT**

**AIM:** To evaluate the effects of supplementation with glycerol in the diet of rats submitted to training.

**METHODS:** Thirty adult male rats of Wistar strain were distributed into four groups in a completely randomized 2x3 factorial design (with or without exercise; and three substrates: glycerol, glucose and saline). The animals were subjected to six weeks of aerobic training in water with 5 % of body weight load. In the last four weeks of the experiment, the animals were supplemented with one of the substrates according to the group via gavage. Data were subjected to analysis of variance (ANOVA) and means were compared by SNK test at 5 %.

**RESULTS:** The change in body weight was lower in the trained groups. On the other hand, food and water consumption were higher in the groups undergoing training in relation to non-trained groups. When isolated, glycerol supplementation resulted in an increase in the levels of triacylglycerol (TAG), total cholesterol, as well as in the area and diameter of adipocytes. However, when associated with training, these parameters were similar to those of other trained groups. LDL + VLDL-C levels decreased in the trained animals that received glycerol compared to untrained ones, as well as compared to trained ones receiving glucose. Supplementation with glycerol isolated or associated to training caused a reduction in food intake and increased villous/crypt ratio. No

renal/hepatic pathological changes were observed. The same happened for the relative weight of these organs regardless of training or diet. Additionally, no changes in blood glucose, high density lipoproteins, urinary volume and density of adipocytes were observed.

**CONCLUSION:** It was concluded that supplementation with glycerol associated with moderate aerobic physical training promoted beneficial metabolic effects. However, supplementation with glycerol alone increased diameter and area of adipocytes, as well as the levels of TAG and total cholesterol.

**Key-words:** Glycerin; nutrition; physical activity; supplementation; metabolism; animal model.

## 1. INTRODUÇÃO

A prática de atividade física tem sido considerada uma das estratégias mais eficientes para controle e diminuição da massa corporal, principalmente quando associada a dietas ou suplementos para perda de peso (Field *et al.* 2010). Diversas substâncias e produtos são descritos como eficientes para auxiliar a diminuição dos estoques de gordura corporal, tais como a carnitina, a cafeína, o ácido linoleico conjugado, as fibras solúveis e o chá verde (Jeukendrup & Randell 2011). Adicionalmente, alguns agentes nutricionais, como o glicerol, parecem promover supressão do apetite, o que pode ser uma estratégia eficaz para controle da massa corporal, principalmente quando combinado com atividade física (Brief & Davis 1982; Björvell & Rössner 1982; Donkin *et al.* 2009).

O glicerol ou glicerina (propano-1,2,3-triol) é um triálcool presente na composição de óleos vegetais e gordura animal, que tem sido utilizado na formulação de dietas, principalmente na produção animal, por se tratar de um produto rico em energia, contendo aproximadamente 4.320 kcal de energia bruta por kg de glicerol puro (Dozier *et al.* 2007; Lammers *et al.* 2008; Alvarenga *et al.* 2012). Adicionalmente, este composto recebeu o *status* GRAS (Generally Recognized as Safe), sendo permitido inclusive para o consumo por seres humanos (FDA 2006).

Estudos envolvendo o consumo de glicerol por animais e humanos demonstraram que esta substância pode influenciar a sensação de saciedade e conseqüentemente a ingestão alimentar (Grinker *et al.* 1980; Brief & Davis 1982; Björvell & Rössner 1982, Donkin *et al.* 2009). Tais efeitos fizeram com que esta substância fosse amplamente investigada como um agente auxiliar para perda de peso (Wirtshafter & Davis 1977; Leibel *et al.* 1980; Grinker *et al.* 1980; Brief & Davis 1982; Björvell & Rössner 1982; Carpenter & Grossman 1983; Donkin *et al.* 2009). No entanto, os resultados descritos na literatura são contraditórios, sendo que em alguns estudos foi verificado que o consumo de glicerol provocou hipofagia (Wirtshafter & Davis 1977; Grinker *et al.* 1980), enquanto outros relataram que não houve alterações significativas no consumo alimentar assim como alterações no peso (Leibel *et al.* 1980; Carpenter & Grossman 1983).

Além disso, a suplementação com glicerol associada a atividade física tem sido investigada devido aos seus efeitos hiper-hidratantes (Schott *et al.* 2001; Kavouras *et al.* 2006; Patlar *et al.* 2012; Maughan & Shirreffs 2012; Koehler *et al.* 2013). Sugere-se que a função do glicerol como regulador dos fluidos corporais se deve às suas propriedades osmóticas. Provavelmente esta substância estimula o aumento da expressão de proteínas tubulares denominadas aquaglicerolporinas (AQP), principalmente a AQP7, fazendo com que haja maior reabsorção de água e glicerol nos túbulos renais (Sohara *et al.* 2005;

Hibuse *et al.* 2006). Desta forma, a suplementação com glicerol tem sido investigada como adjuvante à reposição e manutenção hídrica de atletas e praticantes de atividade física (Magal *et al.* 2003; Patlar *et al.* 2012; Koehler *et al.* 2013).

Entretanto, apesar da significativa expansão dos estudos avaliando os efeitos hiper-hidratantes do consumo de glicerol, seus efeitos metabólicos em praticantes de atividade física ainda são pouco investigados. Por se tratar de uma substância energética, seus efeitos podem estar relacionados não somente às suas funções osmóticas. O aumento nos níveis circulantes de glicerol estimula a gliconeogênese hepática aumentando a quantidade de substratos para o fornecimento de energia, principalmente em situações onde há a necessidade de maior aporte energético, como é o caso do exercício físico (Kavouras *et al.* 2006).

Ademais, estudos utilizando glicerol concomitante à atividade física são geralmente realizados em sessões agudas, principalmente em ambientes hostis com alta temperatura e baixa umidade (Marino *et al.* 2003; Dini *et al.* 2007; Pense & Turnagöl 2011). Desta forma, justifica-se a realização de estudos em modelos de suplementação contínua, visando avaliar seus efeitos metabólicos a longo prazo. Assim, objetivou-se com o presente estudo avaliar os efeitos metabólicos da suplementação com glicerol na dieta de ratos submetidos a treinamento físico aeróbio moderado em meio aquático.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### **Animais**

O presente estudo foi aprovado pela CEUA (Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Lavras), sob o protocolo 22/2012. Todos os procedimentos foram conduzidos de acordo com as resoluções do Conselho Nacional de Controle em Experimentação Animal (CONCEA – SBCAL). Foram utilizados 30 ratos machos adultos (*Rattus norvegicus albinus*) da linhagem Wistar, provenientes do Biotério Central da Universidade Federal de Lavras (UFLA). Foram selecionados animais em estado hígido, com peso inicial de aproximadamente  $272,5 \pm 22,3$ g. Em um primeiro momento, os animais foram submetidos a um período de setes dias de aclimatação às gaiolas metabólicas. Durante todo o período experimental os roedores permaneceram em condições ideais de temperatura ( $22 \pm 2^\circ\text{C}$ ), umidade ( $45 \pm 15$  %) e luminosidade (ciclos claro/escuro de 12/12 horas). Foram fornecidas ração comercial e água *ad libitum* durante todo o experimento.

Ao final do período de ambientação os animais foram distribuídos aleatoriamente em seis grupos contendo cinco animais cada (Tabela 1) de acordo com a dieta e treinamento físico. Foi utilizado um delineamento experimental

inteiramente casualizado em esquema fatorial 2x3 (com ou sem exercício e três substratos – glicerol, glicose e salina).

### **Treinamento físico**

Após o período de adaptação mencionado anteriormente, foi realizada uma aclimatação ao meio aquático. Nesta etapa, os animais dos grupos submetidos ao treinamento físico (G4, G5 e G6) permaneceram por duas horas diárias, durante sete dias, em um tanque de polietileno com capacidade total de 300 litros, contendo água na profundidade de cinco centímetros, a uma temperatura de aproximadamente  $32\pm 2$  °C. O objetivo desta ambientação foi reduzir o estresse dos animais ao ambiente aquático, sem causar adaptação ao treinamento físico (Rambo *et al.* 2009).

Na semana seguinte, os animais foram submetidos a sessões progressivas de natação com incremento de tempo. Esta etapa consistiu em natação sem carga em profundidade de 50 cm (de forma a evitar contato da cauda do animal com o fundo do tanque), onde os animais nadavam 10 minutos no primeiro dia, sendo acrescidos mais 10 minutos diários, até que, ao final de seis dias, cada animal estivesse nadando durante 60 minutos ininterruptos sem carga (Gobatto *et al.* 2001; Lima *et al.* 2009).

Durante as seis semanas subsequentes os animais nadaram por 60 minutos diários, na frequência de cinco vezes por semana, com uma sobrecarga

relativa a 5 % de seu peso corporal. Esta carga foi utilizada com intuito de provocar aumento na capacidade *endurance* dos animais caracterizando um exercício aeróbio de intensidade moderada (Gobatto *et al.* 2001).

Concomitantemente com o treinamento, durante as quatro últimas semanas do experimento, os animais dos grupos G4, G5 e G6 receberam, respectivamente, solução salina, solução de glicose ou solução de glicerol por gavagem (agulha endoscópica acoplada em seringa de 1 ml). Da mesma forma, os animais dos grupos não treinados receberam, em seus respectivos grupos, as mesmas soluções administradas aos animais treinados também nas quatro últimas semanas de experimento.

As soluções de glicose e glicerol (*pharmaceutical grade glycerol*) foram fornecidas, respectivamente, nas doses de 864 mg Kg<sup>-1</sup> e 800 mg Kg<sup>-1</sup> de peso vivo/animal. Tais doses eram isocalóricas de forma a evitar que quaisquer alterações sobre os parâmetros de consumo e ganho de peso fossem decorrentes de diferenças no fornecimento de energia oriundo da suplementação. As doses fornecidas aos animais em cada administração foram administradas no volume de 0,3 ml/animal/dia, de forma a não proporcionar um estresse exacerbado gerado por dilatação estomacal.

Nos animais em treinamento físico a gavagem foi sempre realizada com um intervalo mínimo de 45 minutos antes da sessão de exercício, conforme descrito por Rambo *et al.* (2009). Ademais, todas as sessões de exercício eram



realizadas no mesmo horário, durante o ciclo claro. A figura 1 apresenta as etapas desenvolvidas no decorrer do período experimental.

Após cada sessão de treinamento, os animais eram secos com toalhas absorventes e, após estarem completamente secos, eram colocados em suas respectivas gaiolas, conforme proposto pela *American Physiological Society* (APS 2006).

Ao longo de todo período experimental foram mensurados diariamente o consumo de ração, água e excreção urinária. A pesagem dos animais foi realizada a cada sete dias. Ao final do período experimental os animais foram induzidos a jejum de oito horas e eutanasiados por punção cardíaca sob anestesia (Tiopental sódico 50 mg kg<sup>-1</sup> i.p.). Amostras de sangue foram coletadas com em seringa contendo anticoagulante EDTA, e o plasma foi utilizado para análise de parâmetros bioquímicos (glicose, colesterol total, HDL-C e triacilgliceróis) por meio de kits específicos colorimétricos (Gold Analisa Diagnósticos<sup>®</sup>, Belo Horizonte, Brasil) conforme realizado por Amr & Abeer (2011). Os níveis de LDL + VLDL-C de cada animal foram obtidos através da seguinte equação: colesterol total – HDL-C = LDL + VLDL-C (Martinez-Flores *et al.* 2004).

Após punção cardíaca, os animais foram submetidos à abertura ampla da cavidade abdominal até a exposição dos órgãos internos. Foram então coletados e pesados o fígado e rim direito. Os valores de peso destes órgãos e carcaça foram obtidos individualmente (PAGE *et al.* 2004), e foi calculada então a

massa relativa de cada órgão, em relação ao peso da carcaça limpa (peso do órgão/peso da carcaça limpa).

Para as análises histológicas foram coletados fragmentos de cada segmento do intestino delgado (duodeno, jejuno e íleo), estômago, fígado, rim, pâncreas e tecido adiposo epididimário. Estes órgãos foram fixados em formaldeído 10 % tamponado e processados rotineiramente para confecção de lâminas histológicas que foram coradas com hematoxilina-eosina (Messora *et al.* 2013). A análise das lâminas foi realizada através de microscopia óptica.

Na avaliação histopatológica do pâncreas foram observados os aspectos de integridade das ilhotas de Langerhans, e de maneira semelhante, a análise do estômago, fígado e rins foi realizada com intuito de identificar possíveis lesões microscópicas ou alterações morfológicas.

Todas as análises histomorfométricas foram obtidas utilizando-se um sistema de captura e análise de imagens, constituído por microscópio binocular Olympus CX31 (Olympus Optical do Brasil Ltda, São Paulo, SP) com câmera acoplada (SC30 CMOS Color Camera for Light Microscopy, Olympus Optical do Brasil Ltda, São Paulo, SP). As mensurações foram feitas utilizando-se o software Image-Pro<sup>®</sup> Express versão 6.0 (Media Cybernetics, Rockville, MD, USA).

Assim, nos cortes do intestino delgado foi avaliada a relação entre a profundidade de criptas/altura de vilosidades. A altura de vilosidades foi

definida como a distância vertical ( $\mu\text{m}$ ) entre o topo da vilosidade e a junção vilosidade-cripta. A profundidade de criptas foi obtida pela mensuração da distância vertical da junção vilosidade-cripta até o limite inferior final da cripta. Em cada secção foram mensuradas dez distâncias para profundidade de cripta assim como para altura de vilosidades, e os valores obtidos para cada segmento (duodeno, jejuno ou íleo) de cada animal foram representados pela média de três secções histológicas (Messora *et al.* 2013).

Para tecido adiposo epididimário, os seguintes parâmetros foram avaliados: (1) diâmetro, a partir da mensuração da menor distância entre duas extremidades da célula (Velasco *et al.* 2008); (2) área, a partir da delimitação da mesma; (3) densidade, utilizando-se um quadrado de área conhecida sobreposto a determinados campos das imagens capturadas. A análise da densidade de adipócitos (número de adipócitos por unidade de área de tecido) foi realizada conforme o descrito por Magliano *et al.* (2013).

Todas as mensurações histológicas foram realizadas através de avaliação cega, por um único avaliador treinado.

### **Análise Estatística**

O delineamento foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 2x3 (com ou sem exercício e três substratos – glicose, glicerol e salina). Cada parcela

foi representada por um animal. Os dados foram submetidos à Análise de Variância (ANAVA) e as médias comparadas pelo teste SNK a 5 %. As análises foram realizadas através do programa estatístico SAS (1996).

## **Resultados**

Os animais treinados apresentaram menor ganho de peso em relação aos animais não-treinados, independente da suplementação na dieta. O uso de suplemento (glicerol ou glicose) não promoveu alteração do peso independente do treinamento. Com relação ao consumo alimentar, verificou-se que os animais dos grupos submetidos ao treinamento apresentaram um maior consumo médio diário de ração em relação aos animais não-treinados. Foi observado também que a suplementação com glicerol promoveu redução no consumo alimentar quando comparada aos demais grupos recebendo solução isoenergética de D-glicose ou solução salina.

Os animais submetidos ao treinamento físico consumiram maior quantidade de água em relação aos não-treinados, não havendo influência da suplementação alimentar fornecida. Já a produção urinária não diferiu entre os grupos, independente da suplementação ou do treinamento. Não foram observadas diferenças no peso relativo de fígado e rim (Figura 2).

Adicionalmente, na avaliação histopatológica destes tecidos, assim como do pâncreas e estômago, não foram observadas alterações.

Na avaliação dos parâmetros bioquímicos sanguíneos, foi observado aumento nos níveis de colesterol total dos animais não-treinados que foram suplementados com glicerol. Porém, quando a suplementação com glicerol foi associada ao treinamento, os níveis de colesterol total se mantiveram semelhantes aos demais grupos treinados. Nem o treinamento físico, nem as diferentes suplementações na dieta alteraram os níveis de HDL-C. Os níveis de LDL + VLDL-C diminuíram nos animais treinados que receberam glicerol em relação aos não treinados assim como em relação aos treinados que receberam glicose.

Com relação aos níveis de TAG séricos, o exercício físico associado à suplementação com glicerol provocou diminuição neste parâmetro em relação à administração de glicerol isolada. O uso de glicerol sem exercício provocou aumento de TAG em relação aos demais animais não-treinados. Os níveis glicêmicos não sofreram alterações, independente da suplementação e do treinamento físico (Figura 3).

A suplementação com glicerol isolada provocou aumento no diâmetro e área de adipócitos em relação aos animais não-treinados que receberam glicose ou solução salina. No entanto, a associação entre treinamento e glicerol diminuiu as medidas de diâmetro e área de adipócitos em relação aos animais que

receberam glicerol isolado, não havendo diferença entre os demais grupos treinados.

Na avaliação das medidas intestinais, nos grupos não-treinados foi observado que, em relação aos demais grupos, o consumo de glicerol aumentou a relação vilosidade:cripta (V:C) no duodeno. Adicionalmente, os animais treinados que consumiram glicerol apresentaram maior relação V:C no segmento jejunal em relação aos demais grupos. No íleo, a suplementação com glicerol aumentou a relação V:C tanto nos grupos treinados como não-treinados.

### **Discussão**

Os resultados observados no presente estudo quanto ao aumento no consumo alimentar e a menor variação na massa corporal dos animais submetidos ao treinamento físico, corroboram com os relatados por Melzer *et al.* (2005), onde foi observado que a atividade física regular, quando realizada em intensidade moderada promove aumento no consumo de alimento e manutenção da massa corporal. Desta forma, o aumento na ingestão de alimento frente ao treinamento está relacionado ao maior gasto energético destes animais em comparação aos sedentários. Além disso, o treinamento físico promove algumas adaptações fisiológicas, dentre elas, o aumento da taxa metabólica basal, que aumenta a necessidade de obtenção energética a partir do alimento (Melzer *et al.* 2005).

A suplementação com glicerol na dieta promoveu diminuição no consumo de alimento, tanto nos ratos treinados quanto nos não-treinados. Este fato foi observado até mesmo em comparação aos animais que receberam suplementação com D-glicose isoenergética à de glicerol. Tais resultados corroboram com diversos trabalhos realizados com humanos e animais onde foi relatado que a ingestão ou a infusão venosa de glicerol provocou diminuição no consumo alimentar dos indivíduos (Wirtshafter & Davis 1977; Glick 1980; Carpenter & Grossman 1983; Cerrate *et al.* 2006).

Sugere-se que o efeito hipofágico do glicerol seja consequência de sua ação moduladora da sensação de saciedade, que pode estar relacionada com os produtos da lipólise, que são ácidos graxos e glicerol (Glick 1980; Hibuse *et al.* 2006). Assim, o aumento dos níveis circulantes de glicerol pode estar relacionado ao reconhecimento pelo sistema nervoso central de um estado alimentado, tornando os níveis de glicerol positivamente correlacionados com a perda de peso (Glick 1980; Russel 2010). Outro mecanismo que pode explicar os efeitos anorexigênicos do glicerol é o efeito estimulador da gliconeogênese hepática, que aumenta o aporte de nutrientes circulantes (principalmente glicose) que sinaliza ao sistema nervoso central uma situação de saciedade (Hartmann *et al.* 2010; Patlar *et al.* 2012).

Assim, os resultados encontrados no presente estudo, como em diversos outros (Lin *et al.* 1976; Glick 1980; Cerrate *et al.* 2006), parecem confirmar o

efeito na diminuição do consumo alimentar promovido pela ingestão de glicerol. No entanto, no presente estudo esta substância não alterou significativamente o ganho de peso dos animais, tanto treinados quanto não-treinados. Sugere-se que os efeitos sobre o controle do peso podem estar relacionados à quantidade de glicerol ingerida, tendo sido observado previamente que o consumo de doses iguais ou superiores a 1 g Kg<sup>-1</sup> de peso provocaram diminuição da massa corporal ou atenuação do ganho de peso (Breenan *et al.* 1975; Grinker *et al.* 1980). Cryer & Bartley (1973) também observaram diminuição no ganho de peso em ratos que consumiram ração onde a glicose foi substituída por 54,3 % de glicerol.

No entanto, apesar da redução do consumo alimentar estar relacionada a uma tendência na diminuição do ganho de peso, as vias que envolvem o metabolismo do glicerol não necessariamente podem provocar diminuição na gordura corporal. Neste sentido, em estudo prévio, observou-se que ratos que consumiram glicerol apresentaram aumento na atividade da enzima málica, que está relacionada à lipogênese (Cryer & Bartley, 1973).

Em consonância a este fato, foi observado no presente estudo que houve um aumento nas medidas de área e diâmetro de adipócitos dos animais não treinados que foram suplementados com glicerol, não havendo, no entanto, alterações na densidade de adipócitos. Estes resultados podem estar relacionados com a estimulação da gliconeogênese hepática provocada pelo glicerol, que



aumenta os níveis circulantes de glicose, e conseqüentemente de insulina, fazendo com que haja inibição da lipólise e favorecimento da lipogênese em diferentes tecidos (Meyer *et al.* 1975; Mach *et al.* 2009). Além disso, a inibição da lipólise frente à presença de insulina resulta no *downregulation* de proteínas que promovem o efluxo de ácidos graxos e glicerol das células (Kalant *et al.* 2003), justificando assim o aumento de área e diâmetro de adipócitos encontrados no presente estudo.

No entanto, mesmo que nos animais não-treinados e suplementados com glicerol tenha ocorrido um aumento na área e no diâmetro dos adipócitos, tal aumento não foi suficiente para promover hiperplasia de adipócitos, como observado nos resultados de densidade. Adicionalmente, frente a um maior gasto energético e estimulação adrenérgica induzida pelo exercício físico, ocorre aumento na lipólise fazendo com que as reservas lipídicas dos adipócitos sejam consumidas (Moro *et al.* 2008), justificando então a não diferença nas medidas de adipócitos entre os animais que foram treinados e receberam as diferentes suplementações.

Os resultados observados no presente estudo quanto ao aumento no consumo hídrico (sem alteração nos volumes de excreção urinária pelos animais submetidos ao treinamento) corroboram com os encontrados por Droste *et al.* (2003). Estes autores justificaram que o aumento no consumo de água em ratos submetidos ao treinamento físico pode ser devido à maior evaporação oriunda

do aumento da temperatura corporal e da frequência ventilatória durante o exercício. Com isso, torna-se justificável o uso de substâncias que promovam uma maior hidratação em praticantes de atividade física, como é o caso do glicerol.

No entanto, no presente estudo não foram observadas diferenças significativas no consumo hídrico e excreção urinária dos animais suplementados com as diferentes substâncias. Apesar disso, o aumento na relação V:C observada nos animais que consumiram glicerol pode ser um indicador de aumento na absorção de água no intestino (Wapnir *et al.* 1996). A relação V:C é considerada um indicador da capacidade absorptiva no intestino delgado, sendo diretamente proporcional a eficiência de absorção (Adibmoradi *et al.* 2006; Yang *et al.* 2009). Desta forma, pode-se considerar que o consumo de glicerol provocou uma melhora nestes parâmetros de absorção intestinal tanto nos ratos submetidos ao treinamento quanto nos não-treinados, principalmente nas porções do jejuno e do íleo. Tal absorção ocorre porque no intestino são expressas proteínas de membrana denominadas aquaglicerolporinas (AQP), principalmente a AQP8, que atuam seletivamente para absorção de água e glicerol (Nakano *et al.* 2013).

Portanto, mesmo que no presente estudo não tenham sido observadas alterações marcantes no balanço hídrico dos animais, os resultados verificados nos parâmetros de absorção intestinal demonstram tal ocorrência. Assim, mesmo

em doses pequenas, o glicerol administrado via oral pode promover melhora na absorção de água no intestino sem, no entanto, causar este efeito nos rins. Isto pode estar relacionado à dose utilizada de glicerol não ter sido suficiente para promover aumento na reabsorção renal de água e glicerol, já que foi observado em humanos que doses de glicerol de 1g Kg<sup>-1</sup> e 1,5g Kg<sup>-1</sup> de peso corporal aumentou o volume de líquidos corporais em teste de 40 Km em esteira (Rosendal *et al.* 2012).

O peso relativo de fígado e rim não foi alterado pelo treinamento ou pelas diferentes suplementações. Adicionalmente, não foram encontradas alterações na análise histopatológica destes tecidos, que são os principais sítios de metabolização do glicerol no organismo (Lin 1977; Brisson *et al.* 2001). Também não foram encontradas alterações no pâncreas e estômago. Tais resultados confirmam o *status* GRAS conferido ao glicerol (FDA 2006), pelo menos para a espécie, dose e período utilizados no presente estudo.

Com relação aos parâmetros bioquímicos sanguíneos, o aumento nos níveis de TAG e colesterol total nos animais não-treinados e suplementados com glicerol corroboram com os observados em vários estudos (Narayan *et al.* 1977; Nicolaiew *et al.* 1995; Damiano *et al.* 1999; Osman *et al.* 2008). A hipertrigliceridemia frente ao consumo do glicerol pode estar relacionada ao fato de que o consumo desta substância diminui o *clearance* de TAG, assim como a atividade da lipase lipoproteica, que é a enzima que catalisa a quebra de TAG

(Damiano *et al.* 1999). Já o aumento nos níveis de colesterol total nos animais não-treinados e suplementados com glicerol pode ser devido à estimulação na síntese de quilomícrons induzida pelos altos níveis de glicerol circulantes (Nicolaiew *et al.* 1995).

Os efeitos do exercício físico sobre a melhoria nos níveis de LDL+VLDL-C decorrem do elevado consumo de oxigênio durante o exercício aeróbio, aumentando a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) que contribuem com a oxidação das lipoproteínas de baixa densidade (Iborra *et al.* 2008).

Com relação à glicemia em jejum, como observado por Zanoboni (1976), a administração de solução de glicerol não afetou este parâmetro. Porém em tal estudo houve aumento dos níveis de insulina dentro de 90 minutos após o consumo, em relação à solução de glicose. O aumento nos níveis de insulina frente ao glicerol está relacionado à elevação dos produtos da gliconeogênese que faz com que uma maior quantidade deste hormônio seja secretada para manter a homeostase glicêmica (Kawamori *et al.* 2011).

## **CONCLUSÕES**

A suplementação diária de glicerol a 800 mg Kg<sup>-1</sup> na dieta de ratos, isoladamente ou associado ao treinamento físico, diminuiu o consumo alimentar e melhorou parâmetros relacionados à absorção intestinal sem, no entanto,

alterar o ganho de peso. Adicionalmente, mesmo que nos animais não-treinados tenha sido observado aumento nos níveis de TAG e colesterol total, o treinamento físico concomitante à suplementação promoveu melhoria nestes parâmetros, além de diminuir os níveis de LDL+VLDL-C. Além disso, não foram observadas alterações renais, hepáticas, gástricas ou pancreáticas frente o consumo de glicerol. Assim, a substituição de glicose pelo glicerol como fonte energética para praticantes de exercício físico parece ser vantajosa.

No entanto, alguns cuidados devem ser tomados com relação à ingestão desta substância para a manutenção ou diminuição da gordura corpórea, já que foi observado que os animais não-treinados e suplementados com glicerol apresentaram maior área e diâmetro de adipócitos.

## **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

Adibmoradi, M., Navidshad, B., Seifdavati, J. & Royan, M. 2006. Effect of dietary Garlic meal on histological structure of small intestine in broiler chickens. *J Poult Sci* 43, 378-383.

Alvarenga, R. R., Lima, E. M. C., Zangeronimo, M. G., Rodrigues, P. B. & Bernardino, V. M. P. 2012. Use of Glycerine in Poultry Diets. *World Poultry Sci J* 68, 637-644,

Amr, A. R. & Abeer, E. E-K. 2011. Hypolipideimic and Hypocholestermic Effect of Pine Nuts in Rats Fed High Fat, Cholesterol-Diet. *Wor App Sci J* 15, 1667-1677.

APS (AMERICAN PHYSIOLOGICAL SOCIETY). 2006. Resource Book for the Design of Animal Exercise Protocols. (WWW document). <http://www.the-aps.org/pa/action/exercise/book.pdf>

Björvell, H. & Rössner, S. 1982. Effects of oral glycerol on food intake in man. *Am J Clin Nutr* 36, 262-265.

Brennan, M. F., Fitzpatrick, G. F., Cohen, K. H. & Moore, F. D. 1975. Major Contributor to the Short Term Protein Sparing Effect of Fat Emulsions in Normal Man. *Ann Surg* 182, 386-394.

Brief, D. J. & Davis, J. D. 1982. Glycerol reduces food intake in diabetic rats. *Physiol Behav* 29, 577-580.

Brisson, D., Vohl, M. C., St.-Pierre, J. & gaudet, D. 2001. Glycerol: A neglected variable in metabolic processes? *Bioessays* 23, 534-542.

Carpenter, R. G. & Grossman, S. P. 1983. Plasma fat metabolites and hunger. *Physiol Behav* 30, 57-63.

Cerrate, S., Yan, F., Wang, Z., Coto, C., Sacakli, P. & Waldroup, P. W. 2006. Evaluation of Glycerine from Biodiesel Production as an Feed Ingredient for Broilers. *Int J Poult Sci* 5, 1001-1007.

Cryer, A. & Bartley, W. 1973. Studies on the adaptation of rats to a diet high in glycerol. *Int J Biochem* 4, 293-308.

Damiano, P. F., Rosón, M. I., Armando, I., Nowicki, S., Dascal, E., Cuniberti, L., Albornoz, L. E. & De La Riva, I. J. 1999. Potential Role of Glycerol Leading to Rat Fructose Hypertension. *Hypertension* 34, 1007-1011.

Dini, M., Corbianco, S., Rossi, B. & Lucacchini, A. 2007. Hyperhydrating with glycerol: effects on thermoregulation, hydration and athletic performance during specific exergonic exercise in a warm-humid environment. *Sport Sci Health* 2, 1-7.

Donkin, S. S.; Koser, S. L.; White, H. M.; Doane, P. H.; Cecava, M. J. 2009. Feeding value of glycerol as a replacement for corn grain in rations fed to lactating dairy cows. *J Dairy Sci* 92, 5111–5119.

Dozier, W. A., Kerr, B. J., Corzo, A., Kidd, M. T., Weber, T. E. & Bregendahl, K. 2007. Apparent metabolizable energy of glycerin for broiler chickens. *Poult Sci* 87, 317-322.

Droste, S. K., Gesing, A., Ulbricht, S., Müller, M. B., Linthorst, A. C. E. & Reul, J. M. H. M. 2003. Effects of long-term voluntary exercise on the mouse hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis. *Endocrinology* 144, 3012-3023.

FDA (FOOD AND DRUG ADMINISTRATION). 2006. Code of Federal Regulations. Substances Generally Recognized as Safe: General Purpose Food Additives-Glycerin. (WWW document).  
[http://edocket.access.gpo.gov/cfr\\_2002/aprqrtr/21cfr582.1320.htm](http://edocket.access.gpo.gov/cfr_2002/aprqrtr/21cfr582.1320.htm)

Field, A. E., Haines, J., Rosner, B. & Willett, W. C. 2010. Weight-control behaviors and subsequent weight change among adolescents and young adult females. *Am J Clin Nutr* 91, 147-153.



Glick, Z. 1980. Food intake of rats administered with glycerol. *Physiol Behav* 25, 621-626.

Grinker, J., Strohmayer, A. J., Horowitz, J., Hirsch, J. & Leibel, R. L. 1980. The effect of the metabolite glycerol on food intake and body weight in rats. *Brain Res Bull* 5, 29-35.

Gobatto, C. A., Mello, M. A. R., Sibuya, C. Y., Azevedo, J. R. M., Santos, L. A. & Kokubun, E. 2001. Maximal lactate steady state in rats submitted to swimming exercise. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol* 130, 21-27.

Hartmann, E. M., Garcia, R. F., Gazola, V. A. F. G., Barrena, H. C. & Bazotte, R. B. 2010. Investigation of glycemia recovery with oral administration of glycerol, pyruvate, and L-lactate during long-term, insulin-induced hypoglycemia. *J Diabetes Complicat* 25, 301-305.

Hibuse, T., Maeda, N., Nagasawa, A. & Funahashi, T. 2006. Aquaporins and glycerol metabolism. *Biochim Biophys Acta* 1758, 1004-1011.

Iborra, R. T., Ribeiro, I. C. D., Neves, M. Q. T. S., Charf, A. M., Lottenberg, S. A., Negrão, C. E., Nakandakare, E. R. & Passarelli, M. 2008. Aerobic exercise

training improves the role of high-density lipoprotein antioxidant and reduces plasma lipid peroxidation in type 2 diabetes mellitus. *Scand J Med Sci Spor* 18, 742-750.

Jeukendrup, A. E. & Randell, R. 2011 Fat burners: nutrition supplements that increase fat metabolism. *Obes Rev* 12, 841-851.

Kalant, D., Maslowska, M., Scantlebury, T., Wang, H. W. & Cianflone, K. 2003. Control of Lipogenesis in Adipose Tissue and the Role of Acylation Stimulating Protein. *Can J Diabetes* 27, 154-171.

Kavouras, S. A., Armstrong, L. E., Maresh, C. M., Casa, D. J., Herrera-Soto, J. A., Scheett, T. P., Stoppani, J., Mack, G. W. & Kraemer, W. J. 2006. Rehydration with glycerol: endocrine, cardiovascular and thermoregulatory responses during exercise in the heat. *J Appl Physiol* 100, 442-450.

Kawamori, D., Akiyama, M., Hu, J., Hambro, B. & Kulkarni, R. N. 2011. Growth factor signalling in the regulation of  $\alpha$ -cell fate. *Diabetes Obes Metab* 13, 21-30.

Koehler, K., Braun, H., Marees, M., Geyer, H., Thevis, M., Mester, J. & Schaenzer, W. 2013. Glycerol administration before endurance exercise: metabolism, urinary glycerol excretion and effects on doping-relevant blood parameters. *Drug Test Anal* doi: 10.1002/dta.1446

Lammers, P., Kerr, B. J., Weber, T. E., Bregendahl, K., Lonergan, S. M., Prusa, D. U., Ahn, W. C., Stoffregen, W. A., Dozier, W. A. & Honeyman, M. 2008. Growth performance, carcass characteristics, meat quality, and tissue histology of growing pigs fed crude glycerin –supplemented diets. *J Anim Sci* 86, 2962-2970.

Leibel, R. L., Drewnoviski, A. & Hirsch, J. 1980. Effect of glycerol on weight loss and hunger in obese patients. *Metabolism* 29, 1234-1236.

Lima, F. D., Oliveira, M. S., Furian, A. F., Souza, M. A., Rambo, L. M., Ribeiro, L. R., Silva, L. F. A., Retamoso, L. T., Hoffman, M. S., Magni, D. V., Pereira, L., Figuera, M. R., Mello, C. F. & Royes, L. F. F. 2009. Adaptation to oxidative challenge induced by chronic physical exercise prevents Na<sup>+</sup>, k<sup>+</sup>-ATPase activity inhibition after traumatic brain injury. *Brain Res* 1297, 147-155.

Lin, E. C. C. 1977. Glycerol utilization and its regulation in mammals. *Annu Rev Biochem* 46, 765-795.

Lin, M. G., Romsos, D. R. & Leveille, G. A. 1976. Effect of glycerol on lipogenic enzyme activities and on fatty acid synthesis in the rat and chicken. *J Nutr* 106, 1668-1677.

Mach, M., Bach, A. & Devant, M. 2009. Effects of crude glycerin supplementation on performance and meat quality of Holstein bulls fed high-concentrate diets. *J Anim Sci* 87, 632-638.

Magal, M., Webster, M. J., Sistrunk, L. E., Whitehead, M. T., Evans, R. K. & Boyd, J. C. 2003. Comparison of glycerol and water hydration regimens on tennis-related performance. *Med Sci Sports Exerc* 35, 150-156.

Magliano, D. C., Bargut, T. C. L., Carvalho, S. N., Aguila, M. B., Mandarin-De-Lacerda, C. A. & Souza-Mello, V. 2013. Peroxisome Proliferator-Activated Receptors-Alpha and Gamma Are Targets to Treat Offspring from Maternal Diet-Induced Obesity in Mice. *PLoS ONE* 8, 1-12.

Marino, F. E., Kay, D. & Cannon, J. 2003. Glycerol hyperhydration fails to improve endurance performance and thermoregulation in humans in a warm humid environment. *Pflugers Arch* 446, 455-462.

Martinez-Flores, H. E., Chang, Y. K., Martinez-Bustos, F. & Sgarbieri, V. 2004. Effect of high fiber products on blood lipids and lipoproteins in hamsters. *Nutr Res* 24, 85-93.

Maughan, R. J. & Shirrefs, S. M. 2012. Hydration and performance during Ramadan. *J Sports Sci* 30, S33-S41.

Melzer, K., Kayser, B., Saris, W. H. M. & Pichard, C. 2005. Effects of physical activity on food intake. *Clin Nutr* 24, 885-895.

Messora, M. R., Oliveira, L. F., Foureaux, R. C., Taba Júnior, M., Zangerônimo, M. G., Furlaneto, F. A. & Pereira, L. J. 2013. Probiotic therapy reduces periodontal tissue destruction and improves the intestinal morphology in rats with ligature-induced periodontitis. *J Periodontol* 82, 1818-1826.

Meyer, J. S., Itoh, Y., Okamoto, S., Welch, K. M., Mathew, N. T., Ott, E. O., Sakaki, S., Miyakawa, Y., Chabi, E. & Ericsson, A. D. 1975. Circulatory and

metabolic effects of glycerol infusion in patients with recent cerebral infarction. *Circulation* 51, 701-712.

Moro, C., Pillard, F., Glisezinski, I., Klimcakova, E., Crampes, F., Thalamas, C., Harant, I., Marques, M. A., Lafontan, M. & Berlan, M. 2008. Exercise-induced lipid mobilization in subcutaneous adipose tissue is mainly related to natriuretic peptides in overweight men. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 295, E505-E513.

Nakano, M., Koyama, Y., Nogami, H., Yamamoto, T. & Wakai, T. 2013. Enhanced aquaporin 8 expression after subtotal colectomy in rat. *Open J Gastroenterol* 3, 253-258.

Narayan, K. A., McMullen, J. J., Wakefield, T. & Calhoun, W. K. 1977. Influence of Dietary Glycerol on the Serum Lipoproteins of Rats Fed a Fat-Free Diet. *J Nutr* 107, 2153-2163.

Nicolaïew, N., Cavallero, E., Gandjini, H., Dolé, E., Koziat, J., Gambert, P., François, A. & Jacotot, B. 1995. Effect of acute glycerol administration with or without a mixed meal in humans. *Ann Nutr Metab* 39, 71-84.

Osman, M. A., Allen, P. S., Mehya, N. A., Bobe, G., Coetzee, J. F., Koehler, K. J. & Beitz, D. C. 2008. Acute metabolic responses of postpartal dairy cows to subcutaneous glucagon injections, oral glycerol, or both. *J Dairy Sci* 19, 3311-3322.

Page, K. A., Hartzell, D. L., Li, C., Westby, L. A., Fera, M. A. D., Azai, M. J., Pringle, T. D. & bile, C. A. 2004. Adrenergic receptor agonists increase apoptosis of adipose tissue in mice. *Domest Anim Endocrinol* 26, 23–31.

Patlar, S., Yalçın, H. & Boyalı, E. 2012. The Effect of Glycerol Supplements on Aerobic and Anaerobic Performance of Athletes and Sedentary Subjects. *J Hum Kinet* 34, 69-79.

Pense, M. & Turnagöl, H. 2011. Effects of Glycerol-Induced Hyperhydration on Cardiovascular Functions and Endurance Performance in Athletes During the Course of Treadmill Exercise Performed at High Temperatures. *Wor App Sci J* 12, 1114-1124.

Rambo, L. M., Ribeiro, L. R., Oliveira, M. S., Furian, A. F., Lima, F. D., Souza, M. A., Silva, L. F. A., Retamoso, L. T., Corte, C. L. D., Puntel, G. O., Avila, D. S., Soares, F. A. A., Fighera, M. R., Mello, C. F. & Royes, L. F. F. 2009.

Additive anticonvulsant effects of creatine supplementation and physical exercise against pentylenetetrazol-induced seizures. *Neurochem Int* 55, 333-340.

Rosendal, S. P., Strobel, N. A., Osborne, M. A., Fassett, R. G. & Coombes, J. S. 2012. Performance Benefits of Rehydration with Intravenous Fluid and Oral Glycerol. *Med Sci Sports Exerc* 44, 1780-1790.

Russel, S. T. 2010. Adipokines have a role to play in the treatment of metabolic disease. *Future Med Chem* 2, 1721-1724.

SAS INSTITUTE. 2003. SAS language and procedures: Usage. Version SAS 9.1.3 Cary: SAS Institute.

Schott, H. C., Patterson, K. S. & Eberhart, S. W. 2001. Glycerol hyperhydration in resting horses. *Vet J* 161, 194-204.

Sohara, E., Rai, T., Miyazaki, J. I., Verkman, A. S., Sasaki, S. & Uchida, S. 2005. Defective water and glycerol transport in the proximal tubules of AQP7 knockout mice. *Am J Physiol Renal Physiol* 289, F1195–F1200.



Velasco, M. V. R., Tano, C. T. N., Machado-Santelli, G. M., Consiglieri, V. O., Kaneko, T. M. & Baby A. R. 2008. Effects of caffeine and siloxanetriol alginate caffeine, as anticellulite agents, on fatty tissue: histological evaluation. *J Cosmet Dermatol* 7, 23-29.

Wapnir, R. A., Sia, M. C. & Fisher, S. E. 1996. Enhancement of intestinal water absorption and sodium transport by glycerol in rats. *J Appl Physiol* 81, 2523-2527.

Wirtshafter, D. & Davis, J. D. 1977. Body weight: reduction by long-term glycerol treatment. *Science* 198, 1271-1274.

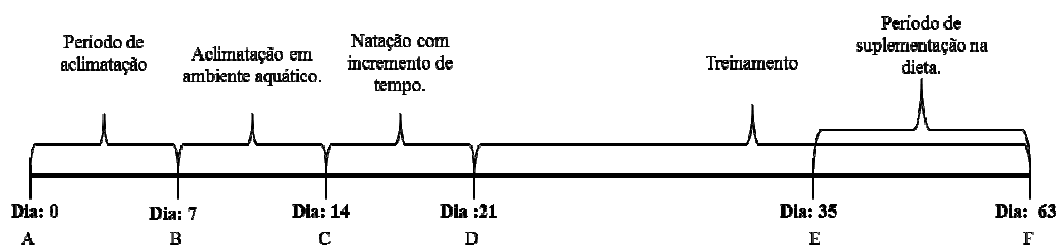
Yang, H., Liu, A., Zhang, M., Ibrahim, S. A., Pang, Z., Leng, X. & Ren, F. 2009. Oral administration of live Bifidobacterium substrains isolated from centenarians enhances intestinal function in mice. *Curr Microbiol* 59, 439-445.

Zanoboni, A., Schwarz, D. & Zanoboni-Muciaccia, W. 1976. Stimulation of insulin secretion in man by oral glycerol administration. *Metabolism* 25, 41-45.

Tabela 1. Distribuição dos grupos experimentais.

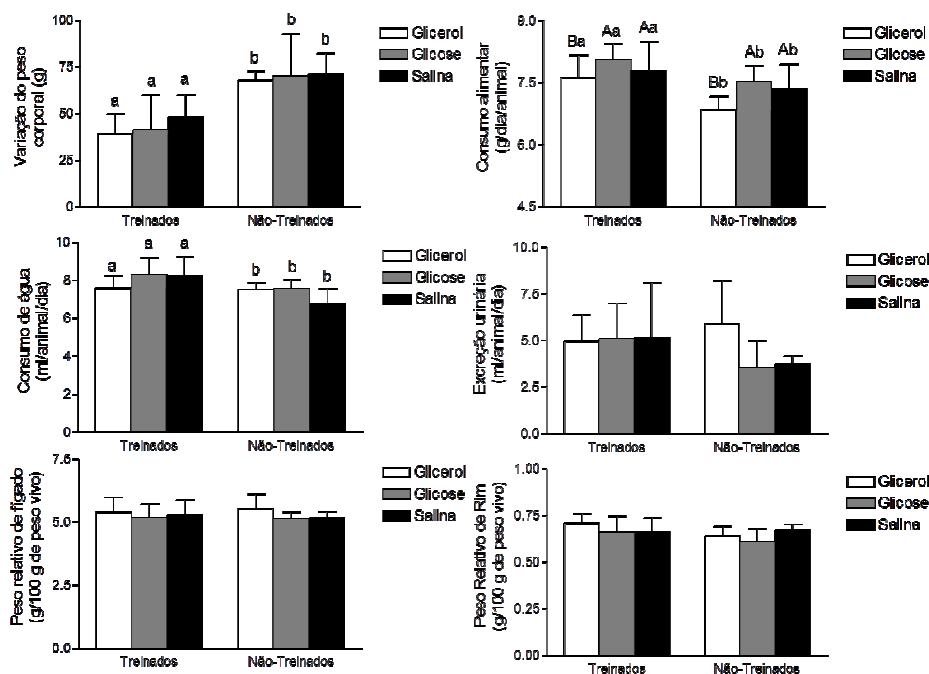
<b>Grupos experimentais</b>	<b>Tratamento</b>
G1 (n=5)	Não-treinados + solução salina
G2 (n=5)	Não-treinados + solução de glicose <sup>a</sup>
G3 (n=5)	Não-treinados + solução de glicerol <sup>b</sup>
G4 (n=5)	Treinados + solução salina
G5 (n=5)	Treinados + solução de glicose <sup>a</sup>
G6 (n=5)	Treinados + solução de glicerol <sup>b</sup>

<sup>a</sup> Solução de glicose na dose de 864 mg Kg<sup>-1</sup> de peso corporal. <sup>b</sup> Solução de glicerol (pharmaceutical grade glycerol 99,8 % de pureza) na dose de 800 mg Kg<sup>-1</sup> de peso corporal.



A - Início da ambientação às gaiolas metabólicas; B - Início da ambientação ao meio aquático onde os ratos permaneceram duas horas por dia, todos os dias, em um tanque com água a cinco centímetros de profundidade; C - Início da ambientação ao exercício. Natação em água a 50 centímetros de profundidade, 10 minutos no primeiro dia, com incremento de 10 minutos diários até que os ratos nadem 60 minutos ininterruptos; D - Início do protocolo de exercício. Natação durante 60 minutos por dia, cinco dias por semana com carga relativa a 5% do peso corporal acoplada ao tórax dos animais; E - Administração de solução salina, glicerol ou glicose através de gavagem nos grupos treinados e não-treinados; F - Final do experimento. Eutanásia de todos os animais e coleta de amostras.

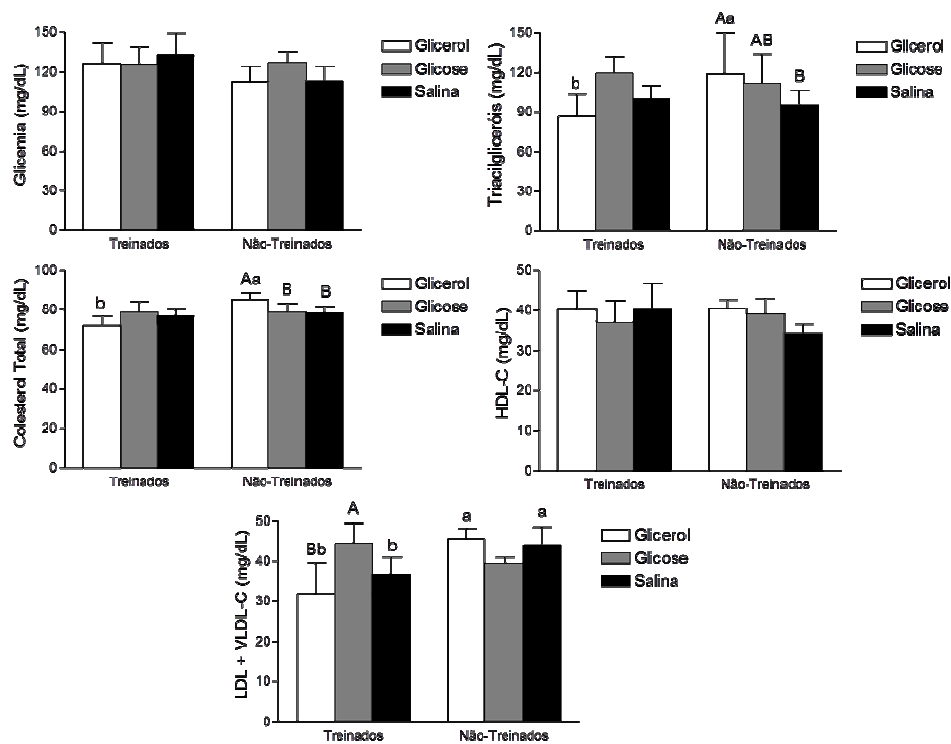
Figura 1: Etapas do experimento.



<sup>Aa</sup> Médias seguidas por diferentes letras maiúsculas se referem as diferenças entre os substratos (glicerol, glicose e salina), pelo teste SNK ( $P < 0,05$ ).

<sup>Bb</sup> Médias seguidas por diferentes letras minúsculas se referem as diferenças entre os grupos treinado e não-treinado, pelo teste de SNK ( $P < 0,05$ ).

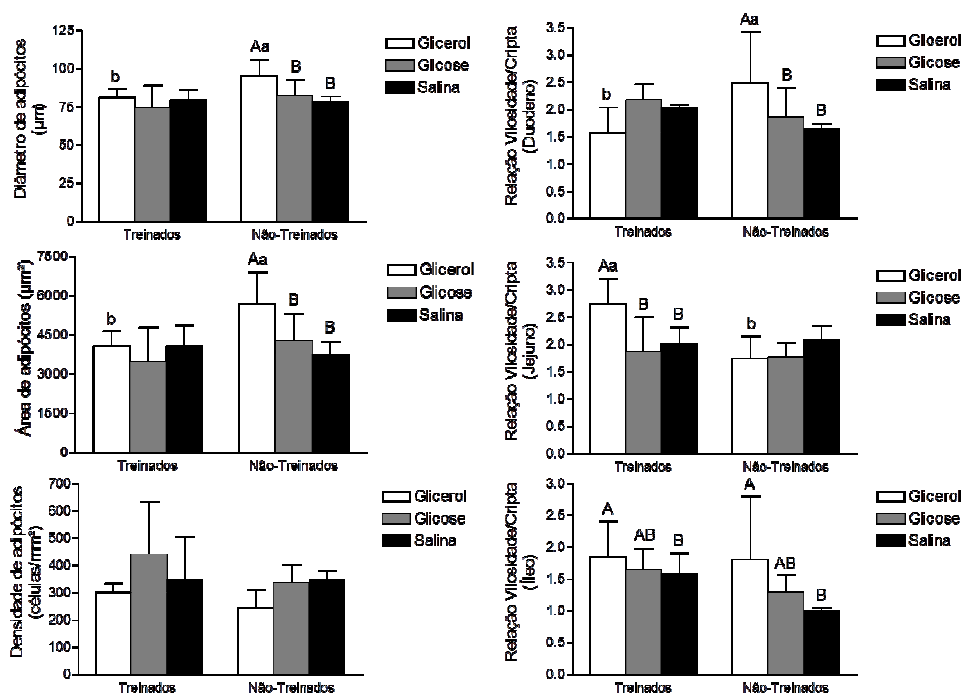
Figura 2. Parâmetros relativos a consumo alimentar e hídrico, excreção urinária, variação do peso corporal e peso relativo de órgãos de ratos submetidos ou não a treinamento físico de seis semanas e suplementados com glicerol, glicose ou salina na dieta, durante quatro semanas.



<sup>Aa</sup> Médias seguidas por diferentes letras maiúsculas se referem as diferenças entre os substratos (glicerol, glicose e salina), pelo teste SNK (P<0.05).

<sup>ab</sup> Médias seguidas por diferentes letras minúsculas se referem as diferenças entre os grupos treinado e não-treinado, pelo teste de SNK (P<0.05).

Figura 3. Parâmetros bioquímicos sanguíneos de ratos submetidos ou não a treinamento físico de seis semanas e suplementados com glicerol, glicose ou salina na dieta, durante quatro semanas.



<sup>AB</sup> Médias seguidas por diferentes letras maiúsculas se referem as diferenças entre os substratos (glicerol, glicose e salina), pelo teste SNK ( $P < 0,05$ ).

<sup>ab</sup> Médias seguidas por diferentes letras minúsculas se referem as diferenças entre os grupos treinado e não-treinado, pelo teste de SNK ( $P < 0,05$ ).

Figura 4. Medidas de adipócitos e relação vilosidade/cripta dos diferentes segmentos do intestino delgado de ratos submetidos ou não a treinamento físico de seis semanas e suplementados com glicerol, glicose ou salina na dieta, durante quatro semanas.

**ARTIGO 2 Adaptação ao treinamento físico de ratos suplementados com glicerol na dieta**

Este artigo foi redigido de acordo com as normas para submissão na *Revista Brasileira de Medicina do Esporte*.

**Adaptação ao treinamento físico de ratos treinados e  
suplementados com glicerol na dieta**

Eric Francelino Andrade<sup>1</sup>; Raquel Vieira Lobato<sup>1</sup>; Ticianá Vasques  
de Araújo<sup>1</sup>; Diego Vicente da Costa<sup>2</sup>; Andressa Naira de Jesus  
Pereira<sup>1</sup>; Gustavo Puggina Rogatto<sup>3</sup>; Márcio Gilberto  
Zangerônimo<sup>1</sup>; Priscila Vieira Rosa<sup>2</sup>, Luciano José Pereira<sup>1</sup>

<sup>1</sup> UFLA – Universidade Federal de Lavras, Departamento de  
Medicina Veterinária, Setor de Fisiologia e Farmacologia - Lavras,  
MG, Brasil.

<sup>2</sup> UFLA – Universidade Federal de Lavras, Departamento de  
Zootecnia, Setor de Nutrição de Monogástricos - Lavras, MG,  
Brasil, Universidade Federal de Lavras, Lavras Brasil.

<sup>3</sup> UFLA – Universidade Federal de Lavras, Departamento de  
Educação Física, Laboratório de Investigação Sobre Metabolismo  
e Exercício Físico, Lavras, Brasil.



\* Autor Correspondente: Eric Francelino Andrade, Departamento de Medicina Veterinária - Setor de Fisiologia e Farmacologia – Universidade Federal de Lavras – UFLA, Caixa Postal 3037 – Campus Universitário – Lavras, Minas Gerais, Brasil.  
E-mail: [ericfrancelinoandrade@gmail.com](mailto:ericfrancelinoandrade@gmail.com)

## **RESUMO**

**INTRODUÇÃO:** A suplementação com glicerol na dieta concomitante ao treinamento físico vem sendo utilizada devido às propriedades hiper-hidratantes desta substância. No entanto, pouco foi investigado quanto aos efeitos do consumo de glicerol sobre aspectos relacionados ao desempenho físico.

**OBJETIVO:** Avaliar os efeitos da suplementação com glicerol sobre parâmetros morfológicos e bioquímicos relacionados ao desempenho físico de ratos Wistar treinados em intensidade moderada.

**MÉTODOS:** Foram utilizados 30 ratos machos que foram treinados em intensidade moderada em meio aquático durante seis semanas e suplementados com três diferentes substratos (solução salina, de glicose ou de glicerol) durante as quatro últimas semanas de treinamento. Os animais foram distribuídos em delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 2x3 (com ou sem exercício e três substratos). Os dados foram submetidos à Análise de Variância (ANAVA) e as médias comparadas pelo teste SNK a 5 %.

**RESULTADOS:** Entre os animais treinados, não houve diferença nos percentuais de proteínas, gorduras e água presentes na carcaça. A suplementação com glicerol provocou aumento no conteúdo proteico da carcaça dos animais não-treinados. Os pesos relativos do coração e da adrenal foram maiores nos animais treinados, sendo que a suplementação com glicerol aumentou o peso relativo de adrenal em ambos os grupos. O consumo de glicerol foi eficiente na diminuição da variação dos níveis de lactato e aspartato aminotransferase (AST) durante a última sessão de exercício. Não houve diferença entre os grupos com relação ao peso relativo de timo e gastrocnêmio, bem como no diâmetro de fibras musculares e relação neutrófilo linfócito (N:L).

**CONCLUSÃO:** O glicerol foi eficiente na diminuição da variação dos níveis de lactato e aspartato aminotransferase (AST) durante a última sessão de exercício.

**Palavras-chave:** Glicerina; nutrição; atividade física; atletas; hiper-hidratação.

**ABSTRACT**

**INTRODUCTION:** Glycerol supplementation in diet associated with physical training has been used due to hyper-hydration properties of this substance. However, few studies have investigated the effects of glycerol consumption on aspects related to physical performance.

**OBJECTIVE:** To evaluate the effects of glycerol supplementation on morphological and biochemical parameters related to physical performance in Wistar rats trained at moderate intensity.

**METHODS:** Thirty male rats were trained at moderate intensity in water for six weeks and supplemented with three different substrates (saline, glucose or glycerol) during the last four weeks of training. The animals were distributed in a completely randomized factorial 2x3 design (with or without exercise and three substrates). Data were subjected to analysis of variance (ANOVA) and means were compared by SNK test at 5 %.

**RESULTS:** Among the trained animals, there were no differences in the percentages of protein, fat and water present in the carcass. Glycerol supplementation caused an increase in the protein

content of the non-trained animal's carcass. The relative weight of heart and adrenal was higher in the trained animals, and glycerol supplementation increased the relative adrenal weight in both groups. The consumption of glycerol was effective in reducing the variation in the levels of lactate and aspartate aminotransferase (AST) during the last exercise session. There was no difference between groups with respect to the relative weight of thymus and gastrocnemius as well as the diameter of muscle fibers and neutrophil-lymphocyte ratio (N:L).

**CONCLUSION:** Supplementation with glycerol was as efficient as glucose, in attenuating the variation of AST and lactate levels during exercise.

**Keywords:** Glycerin, nutrition, physical activity, athletes, hyper-hydration.

## 1. INTRODUÇÃO

A utilização de suplementos alimentares que promovem melhoria da *performance* física vem sendo investigada<sup>1-2</sup>. Dentre as substâncias utilizadas como adjuvantes ao desempenho físico está a glicose, que atua como um carboidrato eficiente para o fornecimento de energia. Seu efeito adaptativo ao exercício está bem definido, promovendo indiretamente aumento na expressão de GLUT-4 e das reservas de glicogênio no músculo esquelético<sup>3</sup> além de diminuir o tempo de fadiga no exercício prolongado<sup>4</sup>. Além disso, o consumo desta substância minutos antes do exercício físico promove aumento no fornecimento de energia para o músculo esquelético, além de manter a homeostase glicêmica durante a atividade<sup>5</sup>.

Porém, outras substâncias, que não carboidratos, vêm sendo investigadas acerca de suas funções ergogênicas, destacando dentre elas o glicerol ou glicerina<sup>6-7</sup>. O glicerol (propano-1,2,3-triol) é um triálcool que pode ser fornecido ao organismo de forma exógena, através do consumo de sua forma

pura ou indiretamente através da ingestão de óleos vegetais e gordura animal cuja composição química é rica em glicerol. Adicionalmente, este composto é produzido endogenamente através da lipólise, onde são liberados na circulação ácidos graxos livres e glicerol<sup>8</sup>.

A suplementação com glicerol tem sido investigada para atletas e praticantes de atividade física devido aos efeitos osmóticos e hiper-hidratantes atribuídos a esta substância<sup>7,9</sup>. Tais efeitos estão relacionados ao aumento da expressão de aquaglicerolporinas (AQP), principalmente a AQP7, fazendo com que ocorra maior reabsorção de água e glicerol nos túbulos renais, expandindo então os fluidos corporais<sup>10</sup>. Devido a isso, mesmo tendo sido considerado seguro para o consumo por seres humanos e animais, o glicerol foi caracterizado pela WADA (*World Anti-Doping Agency*) como uma substância proibida devido ao fato de que o aumento no volume de líquidos corporais pode mascarar a presença de outros agentes ergogênicos em análises de *doping*<sup>11</sup>.

Contudo, os efeitos oriundos do consumo de glicerol podem estar relacionados não somente às suas funções osmóticas, já que um aumento nos níveis circulantes desta substância estimula a gliconeogênese hepática aumentando então a quantidade de substratos (principalmente glicose) para o fornecimento de energia<sup>7</sup>. Tal fato o torna um potencial agente ergogênico principalmente em atividades de longa duração onde há maior necessidade de energia.

No entanto, há uma escassez de estudos que investiguem parâmetros relacionados à adaptação ao exercício frente à associação entre o treinamento físico e a suplementação com glicerol na dieta. Na maioria das vezes os efeitos do consumo de glicerol são avaliados em sessões agudas de exercício, sendo observados apenas aspectos relacionados à hidratação dos indivíduos<sup>12-13</sup>. Assim, existe a necessidade de se investigar os efeitos da suplementação com glicerol sobre os parâmetros relacionados à adaptação ao treinamento.

Desta forma, objetivou-se com o presente estudo avaliar os efeitos da suplementação com glicerol sobre parâmetros



morfológicos e bioquímicos relacionados à adaptação ao treinamento e ao desempenho físico de ratos treinados aerobiamente em intensidade moderada.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### Animais

O presente estudo foi previamente aprovado pela CEUA (Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Lavras), sob o protocolo 22/2012. Todos os procedimentos foram conduzidos de acordo com as resoluções do Conselho Nacional de Controle em Experimentação Animal (CONCEA – SBCAL).

Foram utilizados 30 ratos machos adultos (*Rattus norvegicus albinus*) da linhagem *Wistar*, provenientes do Biotério Central da Universidade Federal de Lavras (UFLA). Foram selecionados animais em estado hígido, com peso inicial de aproximadamente  $272,5 \pm 22,3$ g. Em um primeiro momento, os animais foram submetidos a um período de sete dias de ambientação às gaiolas metabólicas. Durante todo o período experimental os roedores permaneceram em condições controladas de temperatura ( $22 \pm 2$  °C), umidade ( $45 \pm 15$  %) e

luminosidade (ciclos claro/escuro de 12/12 horas). Foram fornecidas ração comercial e água *ad libitum* durante todo o experimento.

Ao final do período de ambientação os animais foram distribuídos aleatoriamente em seis grupos contendo cinco animais cada. Foi utilizado um delineamento experimental inteiramente casualizado em esquema fatorial 2x3 (com ou sem exercício e três substratos – glicerol, glicose e salina). As soluções de glicose ou glicerol foram formuladas a fim de fornecerem a mesma quantidade de energia aos animais e, assim como a solução salina, foram administradas somente nas últimas quatro semanas do período experimental.

Tabela 1.

### **Treinamento físico**

Após o período de adaptação mencionado anteriormente, foi realizada uma adaptação ao meio aquático. Nesta etapa, os animais dos grupos submetidos ao treinamento físico (G4, G5 e G6) permaneceram por duas horas diárias, durante sete dias, em

um tanque de polietileno com capacidade total de 300 litros, contendo água na profundidade de cinco centímetros, a uma temperatura de aproximadamente  $32\pm 2^\circ$  C. O objetivo desta ambientação foi reduzir o estresse dos animais ao ambiente aquático, sem provocar, no entanto, alterações fisiológicas oriundas do treinamento físico<sup>14</sup>.

Na semana seguinte, os animais foram submetidos a sessões progressivas de natação com incremento de tempo. Esta etapa consistiu em natação sem carga em profundidade de 50 cm (de forma a evitar contato da cauda do animal com o fundo do tanque), onde os animais nadavam 10 minutos no primeiro dia, sendo acrescentados mais 10 minutos diários, até que, ao final de seis dias, cada animal estivesse nadando durante 60 minutos ininterruptos sem carga<sup>15</sup>.

Durante as seis semanas subsequentes os animais nadaram por 60 minutos diários, na frequência de cinco vezes por semana, com uma sobrecarga relativa a 5 % de seu peso corporal. Esta carga foi utilizada com intuito de provocar melhoria

na capacidade *endurance* dos animais, caracterizando um exercício aeróbio de intensidade moderada<sup>15</sup>.

Concomitantemente com o treinamento, nas quatro últimas semanas do experimento, os animais dos grupos G4, G5 e G6 receberam, respectivamente, solução salina, solução de D-glicose ou solução de glicerol por gavagem (agulha endoscópica acoplada em seringa de 1 ml). Da mesma forma, os animais dos grupos não treinados receberam, em seus respectivos grupos, as mesmas soluções administradas aos animais treinados, também nas quatro últimas semanas de experimento.

As soluções de D-glicose e glicerol (*pharmaceutical grade glycerol*) foram fornecidas, respectivamente, nas doses de 864 mg/Kg e 800 mg/Kg de peso vivo/animal, sendo isocalóricas entre si. Adicionalmente, as doses fornecidas aos animais em cada administração foram restritas ao volume de 0,3 ml/animal/dia, de forma a não proporcionar um estresse exacerbado gerado por dilatação estomacal.

Nos animais em treinamento físico a gavagem foi sempre realizada com um intervalo mínimo de 45 minutos antes da sessão de exercício, conforme descrito por Rambo *et al.*<sup>14</sup>.

Figura 1.

Após cada sessão de treinamento, os animais foram secos com toalhas absorventes e, após estarem completamente secos, foram colocados em suas respectivas gaiolas.

### **Coleta de material biológico**

Na última sessão de natação, 48 horas antes da eutanásia, os animais dos grupos treinados tiveram amostras de seu sangue coletado (através de amputação da ponta da cauda) antes e imediatamente depois de realizar 60 minutos de exercício. As amostras foram centrifugadas e o plasma foi estocado em temperatura de -80 °C, para análise de lactato e Aspartato Aminotransferase (AST) através de kits colorimétricos comerciais (Gold Analisa Diagnósticos<sup>®</sup>, Belo Horizonte, Brasil).

Ao final do período experimental, sob jejum de oito horas, foi feita amputação da ponta da cauda dos animais e amostras de sangue foram coletadas para realização da contagem de leucócitos e posterior análise da relação neutrófilos:linfócitos (N:L). Os animais foram eutanasiados por punção cardíaca sob anestesia (Tiopental sódico 50 mg/kg i.p.) e posteriormente submetidos à abertura ampla da cavidade abdominal até a exposição dos órgãos internos. Foram coletados e pesados o coração, timo, adrenal direita e músculo gastrocnêmio direito. Os valores de peso destes órgãos e carcaça foram obtidos individualmente e foi calculada a massa relativa de cada órgão, em relação ao peso da carcaça limpa (peso do órgão/peso da carcaça limpa).

### **Composição Química Corporal**

Após eutanásia foi feita retirada dos órgãos internos, pele, cabeça, patas e cauda, e as carcaças limpas foram pesadas e armazenadas a -20 °C. Posteriormente foi realizada a mensuração

do percentual de umidade, proteínas e gorduras na carcaça dos animais. Para mensuração da porcentagem de água, as carcaças foram processadas e secas em estufa a 105 °C durante 24 horas. A porcentagem de gordura presente na carcaça foi avaliada por extração com éter etílico utilizando o equipamento Soxhlet<sup>16</sup>. Já a porcentagem de proteínas contidas na carcaça foi obtida utilizando o método Kjeldahl<sup>16</sup>.

### **Análise histológica**

Após pesagem, o músculo gastrocnêmio foi seccionado transversalmente na sua porção medial e ambas as porções foram armazenadas por 48 horas em formaldeído 10 % tamponado. Posteriormente os tecidos foram processados rotineiramente e secções de 5 µm foram utilizadas para confecção de lâminas histológicas que foram coradas com hematoxilina-eosina. Foram fotografadas cinco diferentes secções do músculo de cada animal (aproximação de 40x) e em cada uma delas foram selecionadas aleatoriamente dez fibras, totalizando em 50 fibras analisadas em



cada músculo. O diâmetro das fibras musculares foi então determinado calculando-se a média dos valores da menor distância de cada fibra ( $\mu\text{m}$ ) conforme descrito por Mierzejewska-Krzyzowska *et al.*<sup>17</sup>.

As análises histomorfométricas foram obtidas utilizando-se um sistema de captura e análise de imagens, constituído por microscópio binocular Olympus CX31 (Olympus Optical do Brasil Ltda, São Paulo, SP) com câmera acoplada (SC30 CMOS Color Camera for Light Microscopy, Olympus Optical do Brasil Ltda, São Paulo, SP). As mensurações foram feitas utilizando-se o software Image-Pro<sup>®</sup> Express versão 6.0 (Media Cybernetics, Rockville, MD, USA).

### **Análise Estatística**

O delineamento foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 2x3 (com ou sem exercício e três substratos – glicose, glicerol e salina). Cada parcela foi representada por um animal. Os dados foram submetidos à Análise de Variância (ANAVA) e as

médias comparadas pelo teste SNK a 5 %. Para análise dos resultados referentes aos níveis de lactato e AST antes e depois da última sessão de exercício foi feita comparação das médias utilizando teste t pareado ( $p < 0,05$ ). As análises foram realizadas através do programa estatístico SAS (1996).

## Resultados

Com relação aos parâmetros químicos corporais avaliados, não houve diferenças significativas entre os grupos quanto ao percentual de gordura e umidade da carcaça. Porém, foi observado aumento na porcentagem de proteínas na carcaça dos animais treinados em relação aos não treinados. A suplementação com glicerol elevou o percentual de proteínas na carcaça dos animais que não foram treinados em relação aos animais recebendo salina e glicose, estando este valor semelhante ao dos animais submetidos ao treinamento.

Figura 2.

A avaliação dos parâmetros relacionados à adaptação ao estresse (relação neutrófilos:linfócitos) não mostrou diferenças significativas tanto com relação ao treinamento, quanto em relação à suplementação. Foi observado que o treinamento promoveu aumento do peso relativo de coração e adrenal. Os ratos, treinados e não-treinados, que foram suplementados com glicerol na dieta apresentaram aumento do peso relativo da adrenal.

Não houve diferenças no peso relativo de timo e gastrocnêmio, nem com relação ao treinamento nem com relação à suplementação alimentar fornecida aos animais. Da mesma forma, na avaliação do diâmetro de fibras do músculo gastrocnêmio não houve diferenças entre os grupos (Figura 3).

Figura 3.

A variação nos níveis de AST (delta AST) observados na última sessão de exercício foi inferior nos grupos suplementados tanto com glicose, quanto com glicerol em relação aos que receberam solução salina. Já a variação nos níveis de lactato (delta lactato) foi menor nos animais suplementados com glicerol em relação aos animais que receberam solução salina. A lactacidemia dos animais suplementados com glicose não diferiu dos demais grupos (Figura 4).

Figura 4.

## **Discussão**

O aumento no percentual de proteínas frente ao treinamento físico, como observado na carcaça dos ratos suplementados com glicose ou solução salina é uma adaptação comum ao exercício<sup>18</sup>. A elevação do conteúdo proteico frente ao treinamento aeróbio está relacionado a fatores tais como o aumento no volume e atividade enzimática mitocondrial, bem como à quantidade e densidade de capilares que chegam às fibras musculares<sup>18</sup>. Adicionalmente, o exercício físico promove aumento na secreção de hormônio do crescimento (GH), que estimula a síntese proteica em diferentes tecidos, como muscular e ósseo<sup>19</sup>.

No entanto, a suplementação com glicerol concomitante ao treinamento não provocou elevação no percentual de proteínas na carcaça. Ademais, a suplementação com glicerol na dieta dos ratos que não foram treinados promoveu aumento neste parâmetro tal qual aos dos animais treinados. Este resultado para os animais não-treinados pode estar relacionado ao efeito gliconeogênico do glicerol, que aumenta a concentração sérica de

nutrientes (principalmente glicose) e promove a redução no fluxo de derivados da degradação proteica, poupando assim as proteínas teciduais<sup>20</sup>. Além disso, este efeito promove aumento dos níveis de insulina, que aumenta a captação de nutrientes no músculo esquelético<sup>21</sup>, aumentando a quantidade de glicogênio muscular em ratos<sup>22</sup>, diminuindo a proteólise<sup>23</sup>.

No entanto, a porcentagem de proteínas na carcaça dos animais treinados que foram suplementados com glicerol não acompanhou o comportamento observado para os grupos não treinados. Tal fato pode estar relacionado à estimulação hormonal, já que foi observado em estudo prévio que os níveis de insulina foram maiores frente à ingestão de glicerol, quando comparada ao consumo de glicose<sup>24</sup>. Assim, sugere-se que estados de hiperinsulinemia podem promover resistência à ação do GH<sup>25</sup> e que a menor deposição de proteínas na carcaça dos animais treinados que foram suplementados com glicerol seja devido a uma menor ação deste hormônio nos tecidos da carcaça.

Adicionalmente, os resultados encontrados para a variação nos níveis de AST demonstraram que tanto a suplementação com

glicerol quanto com glicose atenuaram a degradação tecidual durante o exercício. O aumento na atividade desta enzima durante o exercício está relacionado ao excesso de glutamato formado a partir de lesões nas células musculares<sup>26</sup>. Desta forma, tanto a glicose quanto o glicerol parecem exercer um efeito protetivo contra micro lesões teciduais provocadas durante exercício em comparação com a solução salina.

Os resultados encontrados no presente estudo com relação à avaliação do músculo gastrocnêmio corroboram com os de Laker *et al.*<sup>27</sup>, que verificaram que ratos treinados durante quatro semanas em intensidade moderada na esteira não apresentaram alterações no peso relativo deste músculo. Além disso, a inexistência de alterações no diâmetro de fibras frente ao treinamento pode ser justificada pelo tipo de treinamento realizado, já que as adaptações oriundas do treinamento aeróbio melhoram a capacidade mitocondrial do músculo e promovem predominância de fibras oxidativas lentas<sup>28</sup>. Estas fibras musculares geralmente respondem menos ao efeito anabólico induzido pelo exercício do que as fibras glicolíticas rápidas<sup>28</sup>.

Assim, os resultados encontrados para o diâmetro de fibras musculares não permite inferir que houve adaptação frente à dieta ou ao treinamento. No entanto, os parâmetros relacionados ao estresse como a relação N:L e peso relativo de timo não diferiram significativamente entre os grupos. O aumento na relação N:L está relacionado a maior nível de estresse, já que hormônios como o cortisol (corticosterona no caso de ratos) promovem uma pequena elevação nos neutrófilos e diminuição nos linfócitos circulantes<sup>29</sup>. Adicionalmente, a atrofia do timo está relacionada ao aumento na ativação do eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA), sendo esta situação comum em modelo de estresse<sup>30</sup>. Assim, de acordo com estes parâmetros relacionados ao estresse, tais resultados mostram que o glicerol não interferiu na adaptação ao treinamento.

Apesar disso, a elevação no peso relativo da adrenal nos animais treinados mostra que houve uma maior estimulação nesta glândula. A hipertrofia de adrenal observada em animais submetidos a treinamento físico é um resultado comum<sup>31</sup>. Tal fato pode ocorrer devido ao aumento na estimulação simpática sobre a



medula adrenal que culmina no aumento da secreção de catecolaminas<sup>31-32</sup>, bem como devido ao aumento na ativação do eixo HPA, induzida principalmente por exercícios em intensidades elevadas, que promove aumento na secreção de glicocorticoides<sup>31</sup>.

O aumento do peso relativo do coração observado para os animais treinados corrobora também com estudos prévios<sup>33-34</sup>, sendo esta uma resposta adaptativa ao exercício que melhora o fornecimento de nutrientes e oxigênio para o miocárdio e para o músculo esquelético<sup>33,35</sup>. Assim, o aumento nos níveis de catecolaminas (demonstrado pela hipertrofia adrenal) pode contribuir para a hipertrofia cardíaca não patológica<sup>32</sup>.

A suplementação com glicerol não alterou o peso relativo do coração, porém promoveu aumento do peso relativo da adrenal tanto em animais treinados e não-treinados. Tal situação pode estar relacionada ao aumento no volume de líquidos corporais provocados por esta substância, que faz com que ocorra uma diminuição na concentração relativa de sódio (hiponatremia)<sup>36</sup>. Assim, a baixa concentração deste íon provoca o aumento na

secreção de mineralcorticóides (aldosterona) pela glândula adrenal<sup>37</sup>, podendo este fato estar relacionado ao aumento no peso relativo deste órgão.

O efeito da suplementação com glicerol sobre a variação nos níveis de lactato mostra que esta substância pode promover atraso no tempo de fadiga induzida pelo exercício. Em consonância a este fato, foi observado previamente que o consumo de glicerol antes do exercício aumenta o tempo de depleção dos estoques de glicogênio hepático e muscular em ratos<sup>22</sup>. Assim, uma menor taxa de glicogenólise no músculo durante o exercício está diretamente relacionada a uma menor produção de lactato<sup>38</sup>.

## **CONCLUSÃO**

A suplementação com glicerol na dieta concomitante ao exercício foi eficiente para diminuição do acúmulo de lactato, bem como dos níveis de AST.

Assim, de acordo com os resultados, a utilização desta substância pode promover aumento do tempo de fadiga e prevenção de danos teciduais.

**REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

1. Jacobson IG, Horton JI, Smith B, Wells TS, Boyko EJ, Lieberman HR, et al. Bodybuilding, Energy, and Weight-Loss Supplements Are Associated With Deployment and Physical Activity in U.S. Military Personnel. *Ann Epidemiol* 2012; 22: 318-330.
2. Hutchins-Wiese HI, Kleppinger A, Annis K, Liva E, Lammi-Keefe CJ, Durham HA, et al. The impact of supplemental N-3 long chain polyunsaturated fatty acids and dietary antioxidants on physical performance in postmenopausal women. *J Nutr Health Aging* 2013; 17: 76-80.
3. Kuo CH, Hunt DG, Ding Z, Ivy JL. Effect of carbohydrate supplementation on postexercise GLUT-4 protein expression in skeletal muscle. *J Appl Physiol* 1999; 87: 2290-2295.
4. Stewart RD, Duhamel TA, Foley KP, Ouyang J, Smith IC, Green HJ. Protection of muscle membrane excitability during prolonged cycle exercise with glucose supplementation. *J Appl Physiol* 2007; 103: 331-339.

5. Nybo L. CNS fatigue and prolonged exercise: effect of glucose supplementation. *Med Sci Sports Exerc* 2003; 35: 589-594.
6. Gleeson M, Maughan RJ, Greenhaff PL. Comparison of the effects of pre-exercise feeding of glucose, glycerol and placebo on endurance and fuel homeostasis in man. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 1986; 55: 645-653.
7. Kavouras SA, Armstrong LE, Maresh CM, Casa DJ, Herrera-Soto JA, Scheett TP, et al. Rehydration with glycerol: endocrine, cardiovascular and thermoregulatory responses during exercise in the heat. *J Appl Physiol* 2006; 100: 442-450.
8. Asterholm IW, Mundy DI, Weng J, Anderson RGW, Scherer PE. Altered Mitochondrial Function and Metabolic Inflexibility Associated with Loss of Caveolin-1. *Cell Metab* 2012; 15: 171-185.
9. Patlar S, Yalçın H, Boyalı E. The Effect of Glycerol Supplements on Aerobic and Anaerobic Performance of Athletes and Sedentary Subjects. *J Hum Kinet* 2012; 34: 69-79.
10. Hibuse T, Maeda N, Nagasawa A, Funahashi T. Aquaporins and glycerol metabolism. *Biochim Biophys Acta* 2006; 1758: 1004-1011.

11. Koehler K, Braun H, Marees M, Geyer H, Thevis M, Mester J, et al. Urinary excretion of exogenous glycerol administration at rest. *Drug Test Anal* 2011; 3: 877-882.
12. Dini M, Corbianco S, Rossi B, Lucacchini A. Hyperhydrating with glycerol: effects on thermoregulation, hydration and athletic performance during specific exergonic exercise in a warm-humid environment. *Sport Sci Health* 2007; 2: 1-7.
13. Pense M, Turnagöl H. Effects of Glycerol-Induced Hyperhydration on Cardiovascular Functions and Endurance Performance in Athletes During the Course of Treadmill Exercise Performed at High Temperatures. *World Appl Sci J* 2011; 12: 1114-1124.
14. Rambo IM, Ribeiro LR, Oliveira MS, Furian AF, Lima FD, Souza MA, et al. Additive anticonvulsant effects of creatine supplementation and physical exercise against pentylenetetrazol-induced seizures. *Neurochem Int* 2009; 55: 333-340.
15. Gobatto CA, Mello MAR, Sibuya CY, Azevedo JRM, Santos LA, Kokubun E. Maximal lactate steady state in rats submitted to

swimming exercise. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol* 2001; 130: 21-27.

16. AOAC (Association of Official Analytical Chemistry). *Official Methods of Analysis*, 17<sup>a</sup> ed., Washington, D.C. USA, 2000.

17. Mierzejewska-Krzyzowska B, Drzymała-Celichowska H, Celichowski J. Gender differences in the morphometric properties of muscle fibres and the innervation ratio of motor units in rat medial gastrocnemius muscle. *Anat Histol Embryol* 2011; 40: 249-255.

18. Picosky MA, Gaine PC, Martin WF, Grabarz KC, Ferrando AA, Wolfe RR.; et al. Aerobic exercise training increases skeletal muscle protein turnover in healthy adults at rest. *J Nutr* 2006; 136: 379-383.

19. Birzniece V, Nelson AE, Ho KK. Growth hormone and physical performance. *Trends Endocrinol Metab* 2011; 22: 171-178.

20. Dewasmes G, Duchamp C, Bothorel B, Candas AV. Sleep changes in fasting rats after chronic glycerol feeding. *Physiol Behav* 1991; 50: 537-541.

21. Mach M, Bach A, Devant M. Effects of crude glycerin supplementation on performance and meat quality of Holstein bulls fed high-concentrate diets. *J Anim Sci* 2009; 87: 632-638.
22. Terblanche SE, Fell RD, Juhlin-Dannfelt AC, Craig BW, Holloszy JO. Effects of glycerol feeding before and after exhausting exercise in rats. *J Appl Physiol Respir Environ Exerc Physiol* 1981; 50: 94-101.
23. Zanker CL, Swaine IL, Castell LM, Newsholme EA. Responses of plasma glutamine, free tryptophan and branched-chain amino acids to prolonged exercise after a regime designed to reduce muscle glycogen. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 1997; 75: 543-548.
24. Zanoboni A, Schwarz D, Zanoboni-Muciaccia W. Stimulation of insulin secretion in man by oral glycerol administration. *Metabolism* 1976; 25: 41-45.
25. Xu J, Ji S, Venable DY, Franklin JL, Messina JL. Prolonged insulin treatment inhibits GH signaling via STAT3 and STAT1. *J Endocrinol* 2005; 184: 481-492.



26. Leibowitz A, Klin Y, Gruenbaum BF, Gruenbaum SE, Kuts R, Dubilet M, et al. Effects of strong physical exercise on blood glutamate and its metabolite 2-ketoglutarate levels in healthy volunteers. *Acta Neurobiol Exp (Wars)* 2012; 72: 385-396.
27. Laker RC, Wlodek ME, Wadley GD, Gallo LA, Meikle PJ, McConell GK. Exercise early in life in rats born small does not normalize reductions in skeletal muscle PGC-1 $\alpha$  in adulthood. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2012; 302: E1221-E1230.
28. Araki S, Izumiya Y, Hanatani S, Rokutanda T, Usuku H, Akasaki Y, et al. Akt1-mediated skeletal muscle growth attenuates cardiac dysfunction and remodeling after experimental myocardial infarction. *Circ Heart Fail* 2012; 5: 116-125.
29. McLaren GW, MacDonald DW, Georgiou C, Mathews F, Newman C, Mian R. Leukocyte coping capacity: a novel technique for measuring the stress response in vertebrates. *Exp Physiol* 2003; 88: 541-546.
30. Umriukhin AE, Sudakov KV. Open Field Behavior and the State of the Thymus and Adrenal Glands in Rats after Exposure to

Stress and Elevation of Blood Level of Autoantibodies to Dopamine and Glutamate. *Bull Exp Biol Med* 2013; 155: 587-590.

31. Droste SK, Gesing A, Ulbricht S, Müller MB, Linthorst ACE, Reul JMHM. Effects of long-term voluntary exercise on the mouse hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis. *Endocrinology* 2003; 144: 3012-3023.

32. Schneider J, Lothar A, Hein I, Gilsbach R. Chronic cardiac pressure overload induces adrenal medulla hypertrophy and increased catecholamine synthesis. *Basic Res Cardiol* 2011; 106: 591-602.

33. Konhilas JP, Maass AH, Luckey SW, Stauffer BL, Olson EN, Leinwand LA. Sex modifies exercise and cardiac adaptation in mice. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2004; 287: 2768-2776.

34. Schoepe M, Schrepper A, Schwarzer M, Osterholt M, Doenst T. Exercise can induce temporary mitochondrial and contractile dysfunction linked to impaired respiratory chain complex activity. *Metabolism* 2012; 61: 117-126.

35. Clark MG, Clerk LH, Newman JMB, Rattigan S. Interaction between metabolism and flow in tendon and muscle. *Scand J Med Sci Sports* 2000; 10: 338-345.
36. Von Duvillard SP, Braun WA, Markofski M, Beneke R, Leithäuser R. Fluids and hydration in prolonged endurance performance. *Nutrition* 2004; 20: 651-656.
37. Decaux G, Musch W, Penninckx R, Soupart A. Low plasma bicarbonate level in hyponatremia related to adrenocorticotropin deficiency. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88: 5255-5257.
38. Rooney K, Trayhurn P. Lactate and the GPR81 receptor in metabolic regulation: implications for adipose tissue function and fatty acid utilisation by muscle during exercise. *Br J Nutr* 2011; 106: 1310-1316.

Tabela 1. Distribuição dos grupos experimentais (n=5 animais por grupo)

<b>Grupos Experimentais</b>	<b>Suplemento dietético</b>
G1 (NT) G4 (T)	0,3 ml de solução salina 0,9 %
G2 (NT) G5 (T)	0,3 ml de solução de glicose (864 mg/Kg de peso corporal)
G3 (NT) G6 (T)	0,3 ml de solução de glicerol [( <i>pharmaceutical grade glycerol</i> 99,8 % de pureza) na dose de 800 mg/Kg de peso corporal].

Legenda. NT: não-treinados; T: treinados.

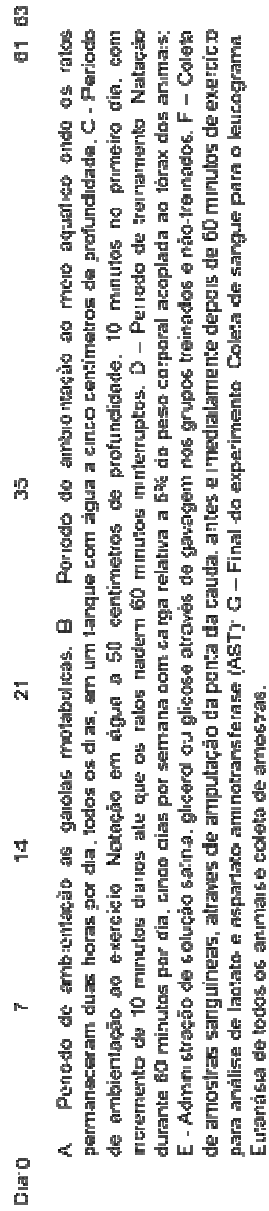
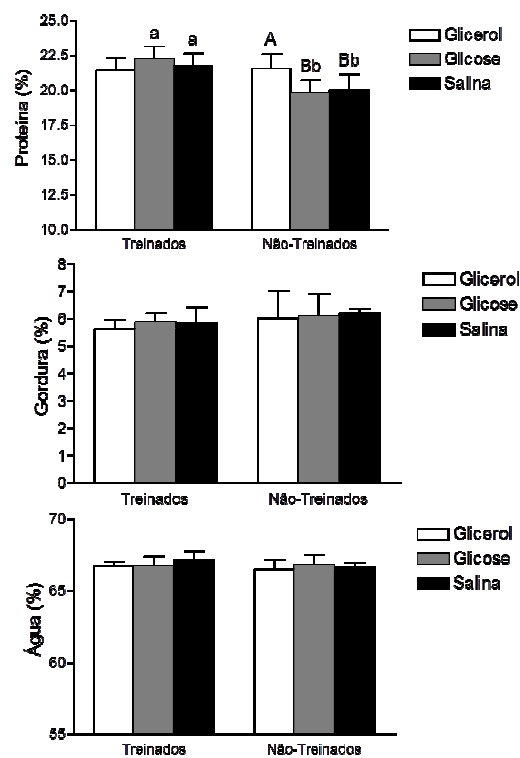


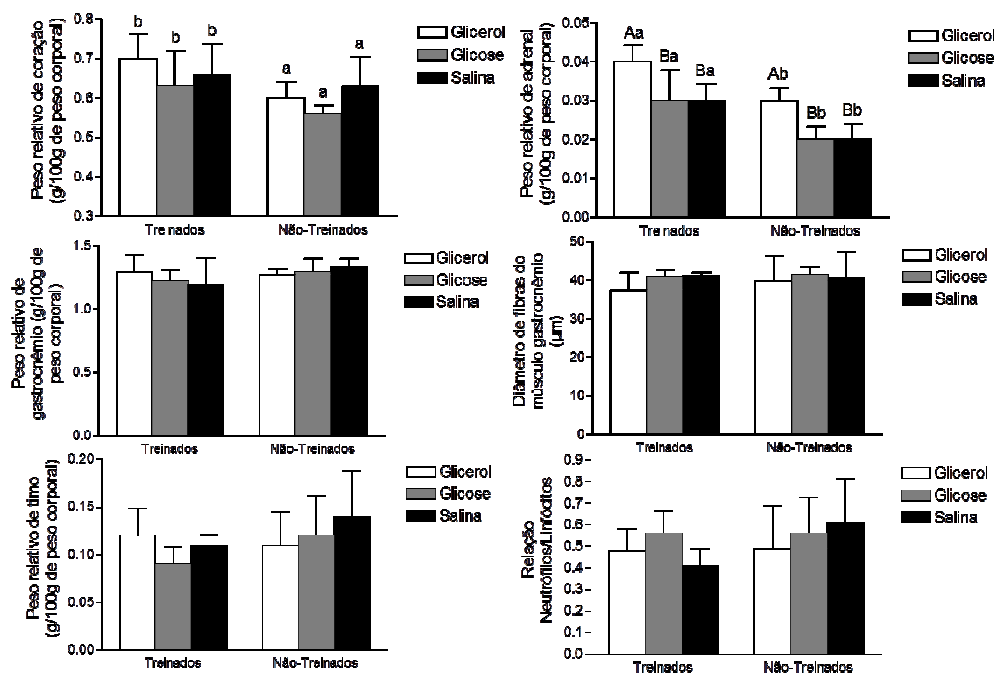
Figura 1. Etapas do experimento.



<sup>A,B</sup> Médias seguidas por diferentes letras maiúsculas se referem as diferenças entre os substratos (glicerol, glicose e salina), pelo teste SNK ( $P < 0,05$ ).

<sup>a,b</sup> Médias seguidas por diferentes letras minúsculas se referem as diferenças entre os grupos treinado e não-treinado, pelo teste de SNK ( $P < 0,05$ ).

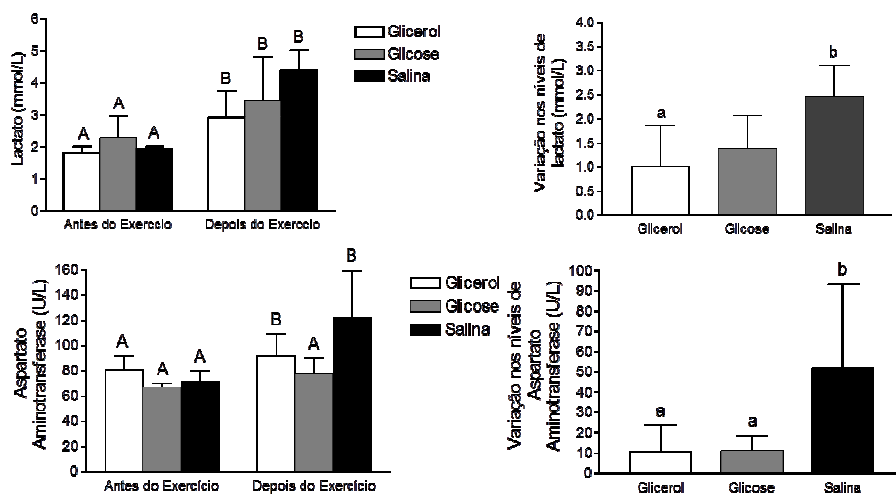
Figura 2. Parâmetros de composição química corporal de ratos submetidos ou não a treinamento físico de seis semanas e suplementados com glicerol, glicose ou salina na dieta, durante quatro semanas.



<sup>A,B</sup> Médias seguidas por diferentes letras maiúsculas se referem as diferenças entre os substratos (glicerol, glicose e salina), pelo teste SNK ( $P < 0,05$ ).

<sup>a,b</sup> Médias seguidas por diferentes letras minúsculas se referem as diferenças entre os grupos treinado e não-treinado, pelo teste de SNK ( $P < 0,05$ ).

Figura 3. Peso relativo de órgãos, diâmetro de fibras do músculo gastrocnêmio e relação Neutrófilos/Linfócitos de ratos submetidos ou não a treinamento físico de seis semanas e suplementados com glicerol, glicose ou salina na dieta, durante quatro semanas.



A,B Médias seguidas por diferentes letras maiúsculas indicam diferenças entre antes e depois do exercício pelo teste t pareado ( $P < 0,05$ ).

a,b Médias seguidas por diferentes letras minúsculas indicam diferenças entre na variação (delta: final - inicial) de lactato e Aspartato Aminotransferase (AST) antes e depois de 60 minutos de exercício, ANOVA teste de SNK ( $P < 0,05$ ).

Figura 4. Níveis séricos de lactato e Aspartato Aminotransferase (AST) antes e depois da última sessão de exercício e variação (delta: Inicial-final) em ratos submetidos a seis semanas de treinamento e suplementados com glicerol, glicose ou salina na dieta, durante quatro semanas.



## CONCLUSÕES GERAIS

Os resultados do presente estudo demonstram que em ratos treinados a suplementação com glicerol durante 28 dias não provocou efeitos deletérios à saúde. Mesmo que muitos estudos demonstrem os efeitos hiperhidratantes do glicerol, sua utilização por praticantes de atividade física deve ir além de seus efeitos osmóticos, já que a variação na concentração de lactato e AST observada nos animais que consumiram glicerol mostra que existe um potencial efeito contra a fadiga muscular.

Além disso, suplementação com glicerol promoveu diminuição na ingesta alimentar dos animais treinados e não-treinados. No entanto, o consumo desta substância sem a prática de exercícios físicos promoveu aumento nas medidas de adipócitos, bem como nos níveis de TAG e colesterol total. Devido a isso, pode-se inferir que existem contraindicações para utilização de glicerol por indivíduos sedentários.

**ANEXOS****Aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade  
Federal de Lavras**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE LAVRAS**  
**PRÓ-REITORIA DE PESQUISA**  
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS  
Cx.P.3037 - Lavras – MG – 37200-000 – (35) 3829-5182 cba@nintec.ufla.br

**CERTIFICADO**

Certificamos que o protocolo nº 022/12, relativo ao projeto intitulado "Avaliação de parâmetros metabólicos e fisiológicos em ratos recebendo dieta suplementada com glicerol e submetidos a protocolo de exercício aeróbio", que tem como responsável Luciano José Pereira está de acordo com os princípios éticos da experimentação animal, adotados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (Comissões Permanentes/PRP-UFLA), tendo sido aprovado na reunião de 06/09/2012.

**CERTIFICATE**

We hereby certify that the Protocol nº 022/12, related to the project entitled "Evaluation of metabolic and physiological parameters in rats receiving diet supplemented with glycerol and subjected to aerobic exercise", under the supervision of Luciano José Pereira, is in agreement with the Ethics Principles in Animal Experimentation, adopted by the Bioethic Committee in Utilization of Animals (Comissões Permanentes/PRP-UFLA), and was approved in September 6, 2012.

Lavras, 06 de setembro de 2012

  
Prof.<sup>a</sup> Gabriela Rodrigues Sampaio  
Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais CEUA

Universidade Federal de Lavras  
Pró-Reitoria de Pesquisa / Comissões Permanentes  
Campus Universitário -  
Caixa Postal 3037 / CEP 37200 000 – Lavras, MG - Brasil  
Tel.: +55 (35) 3829 5182  
cba@nintec.ufla.br - www.prp.ufla.br

## Laudo do glicerol



HENRIFARMA PRODUTOS QUÍMICOS E FARMACÊUTICOS LTDA. -

**CERTIFICADO DE ANÁLISE**

Emissão: 20/09/2012

NR. N.F.: 063393

Produto	GLICEROL (VEGETAL) - ( DEPC)
Especificação	USP
D.C.B.	04469
C.A.S.	56-81-5
Aspecto	LIQUIDO XAROPOSO, INCOLOR, LIMPIDO, INODORO, OU DE LEVE ODOR CARACTERISTICO, SEGUIDO DE SENSAÇÃO DE CALOR, HIGROSCOPICO. #
Solubilidade	MISCIVEL COM AGUA E COM ALCOOL, INSOLUVEL EM CLOROFORMIO E EM ETHER. #
País de Origem	BRASIL
Lote Henrifarma N°	TQ-230812080217 *28593/12-028640
Lote Fabricante N°	TQ-230812080217
Data de Fabricação	26/07/2012
Data de Validade	26/07/2013
Conservação	RECIPIENTES HERMETICOS.

Determinação Física	Especificações	Unidades	Resultados
IDENTIFICACAO	TESTE		PASSA TESTE
DENSIDADE A 25 #C	MINIMO 1.249		1.261 #
COR	MAXIMO 10	APHA	4.0
Determinação Química	Especificações	Unidades	Resultados
TEOR ( BASE ANIDRA )	MINIMO 99.7	%	100.3 #
ACIDOS GRAXOS E ESTERES	MAXIMO 1.0	mL	< 1.0 #
CLORETO	MAXIMO 10	ppm	< 10 #
SULFATO	MAXIMO 20	ppm	< 20 #
ACIDOS PESADOS	MAXIMO 0.3	%	0.1 #
GLICEROL MONOGLICOL	MAXIMO 5	ppm	< 5 #
IMPUREZAS CLORADAS	MAXIMO 0.025	%	0.010
RESIDUO DE IGNICAO	MAXIMO 30	ppm	< 30 #
SOLVENTES RESIDUAIS	MAXIMO 70	ppm	40 #
MONOETILENOGLICOL	TESTE		PASSA TESTE
MONOPROPILENOGLICOL	MAXIMO 0.025	%	0.010
	MAXIMO 0.025	%	0.010

RUA FREIRE DA SILVA, Nº 209 / 217 - CAMBUÍ - SÃO PAULO - SP - CEP 01523-020 - INSCR. EST. 105.285.583.114 - C.N.P.J. 61.074.662/0001-09  
 FONE: (11) 3399-2001 FAX: (11) 3399-2001  
 WEB SITE: <http://www.henrifarma.com.br> E-MAIL: [henrifar@henrifarma.com.br](mailto:henrifar@henrifarma.com.br)  
 CRF: SP N. 11811

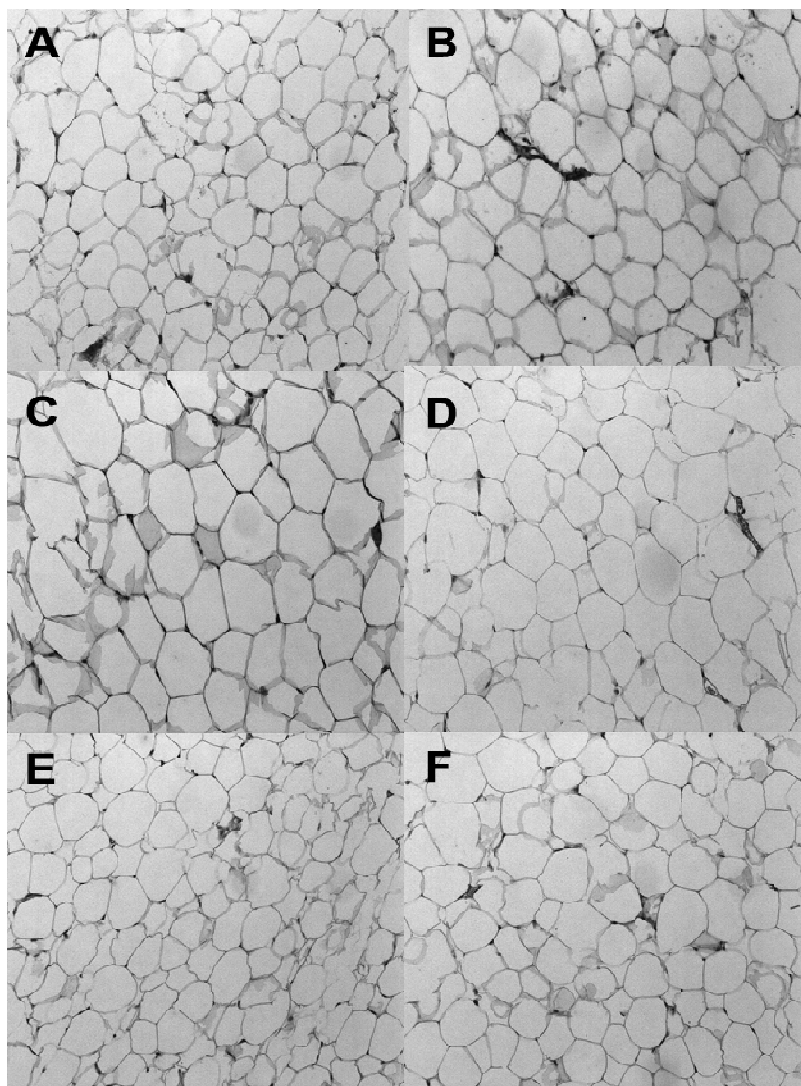


Figura 1. Adipócitos da região epididimária de ratos submetidos ou não a treinamento físico de seis semanas e suplementados com glicerol, glicose ou salina na dieta, durante quatro semanas. Objetiva de 40x. (A, B, C: animais não-treinados suplementados respectivamente com solução salina, glicose ou glocerol; D, E, F: animais treinados suplementados respectivamente com solução salina, glicose ou glicerol).

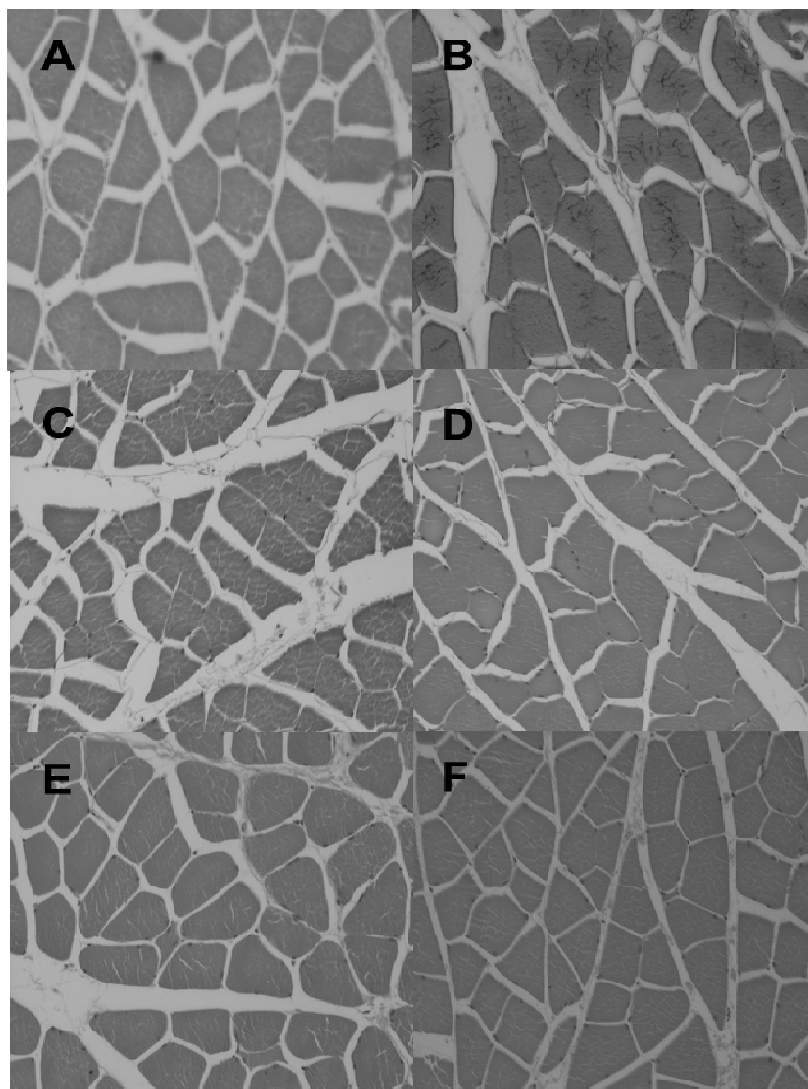


Figura 2. Fibras do músculo gastrocnêmio (corte transversal na região medial do tecido) de ratos submetidos ou não a treinamento físico de seis semanas e suplementados com glicerol, glicose ou salina na dieta, durante quatro semanas. Objetiva de 40x. (A, B, C: animais não-treinados suplementados respectivamente com solução salina, glicose ou glocerol; D, E, F: animais treinados suplementados respectivamente com solução salina, glicose ou glicerol).

TABELA 1 Análise de variância para proteínas na carcaça de ratos treinados e não-treinados suplementados com solução salina, glicose ou glicerol.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
SUBST	2	3.065870	1.532935	1.651	0.2121
EXERC	1	12.512545	12.512545	13.477	0.0011
SUBST*EXERC	2	9.784472	4.892236	5.269	0.0123
erro	25	23.211640	0.928466		
-----					
Total corrigido	30	48.574527			
CV (%) =	4.56				
Média geral:	21.1416452	Número de observações: 31			

TABELA 2 Análise de variância para umidade na carcaça de ratos treinados e não-treinados suplementados com solução salina, glicose ou glicerol.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
SUBST	2	0.360151	0.180076	0.550	0.5838
EXERC	1	0.295130	0.295130	0.901	0.3515
SUBST*EXERC	2	0.424899	0.212450	0.649	0.5312
erro	25	8.186146	0.327446		
-----					
Total corrigido	30	9.266326			
CV (%) =	0.86				
Média geral:	66.7721613	Número de observações: 31			

TABELA 3 Análise de variância para gordura na carcaça de ratos treinados e não-treinados suplementados com solução salina, glicose ou glicerol.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
SUBST	2	0.330718	0.165359	0.388	0.6823
EXERC	1	0.800971	0.800971	1.880	0.1825
SUBST*EXE	2	0.036915	0.018458	0.043	0.9577
erro	25	10.650738	0.426030		
-----					
Total corrigido	30	11.819341			
CV (%) =	10.99				
Média geral:	5.9376129	Número de observações: 31			

TABELA 4 Análise de variância para variação de peso de ratos treinados e não-treinados suplementados com solução salina, glicose ou glicerol.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
SUBST	2	0.761134	0.380567	0.361	0.7007
EXERC	1	27.295478	27.295478	25.878	0.0000
SUBST*EXERC	2	0.451124	0.225562	0.214	0.8089
erro	25	26.369861	1.054794		
-----					
Total corrigido	30	54.877597			
CV (%) =	13.92				
Média geral:	7.3794012	Número de observações:	31		

TABELA 5 Análise de variância para consumo alimentar de ratos treinados e não-treinados suplementados com solução salina, glicose ou glicerol.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
SUBST	2	1.654647	0.827323	4.045	0.0301
EXERC	1	2.654770	2.654770	12.979	0.0014
SUBST*EXERC	2	0.301146	0.150573	0.736	0.4891
erro	25	5.113527	0.204541		
-----					
Total corrigido	30	9.724091			
CV (%) =	6.03				
Média geral:	7.5010968	Número de observações:	31		

TABELA 6 Análise de variância para consumo de água de ratos treinados e não-treinados suplementados com solução salina, glicose ou glicerol.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
SUBST	2	0.892794	0.446397	1.033	0.3708
EXERC	1	3.217469	3.217469	7.442	0.0115
SUBST*EXERC	2	2.456246	1.228123	2.841	0.0773
erro	25	10.808604	0.432344		
-----					
Total corrigido	30	17.375113			
CV (%) =	8.57				
Média geral:	7.6748710	Número de observações:	31		

TABELA 7 Análise de variância para a produção urinária de ratos treinados e não-treinados suplementados com solução salina, glicose ou glicerol.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
SUBST	2	0.524927	0.262463	1.412	0.2624
EXERC	1	0.137051	0.137051	0.737	0.3987
SUBST*EXERC	2	0.482808	0.241404	1.299	0.2906
erro	25	4.646490	0.185860		
-----					
Total corrigido	30	5.791276			
CV (%) =	20.18				
Média geral:	2.1360630	Número de observações:		31	

TABELA 8 Análise de variância para relação neutrófilos:linfócitos de ratos treinados e não-treinados suplementados com solução salina, glicose ou glicerol.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
SUBST	2	0.005508	0.002754	0.152	0.8594
EXERC	1	0.000048	0.000048	0.003	0.9591
SUBST*EXERC	2	0.056247	0.028124	1.557	0.2306
erro	25	0.451686	0.018067		
-----					
Total corrigido	30	0.513489			
CV (%) =	18.53				
Média geral:	0.7253589	Número de observações:		31	

TABELA 9 Análise de variância para peso relativo do coração de ratos treinados e não-treinados suplementados com solução salina, glicose ou glicerol.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
SUBST	2	0.025560	0.012780	3.363	0.0509
EXERC	1	0.034164	0.034164	8.990	0.0061
SUBST*EXERC	2	0.007501	0.003751	0.987	0.3868
erro	25	0.095010	0.003800		
-----					
Total corrigido	30	0.162236			
CV (%) =	9.76				
Média geral:	0.6315806	Número de observações:		31	



TABELA 10 Análise de variância para peso relativo do fígado de ratos treinados e não-treinados suplementados com solução salina, glicose ou glicerol.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
SUBST	2	0.615535	0.307767	1.274	0.2972
EXERC	1	0.000040	0.000040	0.000	0.9899
SUBST*EXERC	2	0.126462	0.063231	0.262	0.7717
erro	25	6.037895	0.241516		
-----					
Total corrigido	30	6.779931			
CV (%) =	9.27				
Média geral:	5.3020968	Número de observações:	31		

TABELA 11 Análise de variância para peso relativo do rim de ratos treinados e não-treinados suplementados com solução salina, glicose ou glicerol.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
SUBST	2	0.012193	0.006097	1.481	0.2468
EXERC	1	0.014047	0.014047	3.411	0.0766
SUBST*EXERC	2	0.006008	0.003004	0.730	0.4921
erro	25	0.102944	0.004118		
-----					
Total corrigido	30	0.135192			
CV (%) =	9.74				
Média geral:	0.6585484	Número de observações:	31		

TABELA 12 Análise de variância para peso relativo da glândula adrenal de ratos treinados e não-treinados suplementados com solução salina, glicose ou glicerol.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
SUBST	2	0.000231	0.000116	5.478	0.0106
EXERC	1	0.000981	0.000981	46.465	0.0000
SUBST*EXERC	2	0.000006	0.000003	0,1267	0.8816
erro	25	0.000528	0.000021		
-----					
Total corrigido	30	0.001718			
CV (%) =	16.26				
Média geral:	0.0282581	Número de observações:	31		

TABELA 13 Análise de variância para peso relativo do músculo gastrocnêmio direito de ratos treinados e não-treinados suplementados com solução salina, glicose ou glicerol.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
SUBST	2	0.001713	0.000857	0.063	0.9391
EXERC	1	0.023119	0.023119	1.701	0.2040
SUBST*EXERC	2	0.033423	0.016712	1.230	0.3095
erro	25	0.339750	0.013590		
-----					
Total corrigido	30	0.398005			
CV (%) =	9.20				
Média geral:	1.2668710	Número de observações:		31	

TABELA 14 Análise de variância para peso relativo do timo de ratos treinados e não-treinados suplementados com solução salina, glicose ou glicerol.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
SUBST	2	0.002830	0.001415	0.586	0.5640
EXERC	1	0.000864	0.000864	0.358	0.5551
SUBST*EXERC	2	0.007251	0.003626	1.502	0.2422
erro	25	0.060365	0.002415		
-----					
Total corrigido	30	0.071310			
CV (%) =	14.72				
Média geral:	0.3338287	Número de observações:		31	

TABELA 15 Análise de variância para níveis séricos de colesterol de ratos treinados e não-treinados suplementados com solução salina, glicose ou glicerol.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
SUBST	2	6.138754	3.069377	0.165	0.8488
EXERC	1	217.077920	217.077920	11.667	0.0022
SUBST*EXERC	2	288.658461	144.329231	7.757	0.0024
erro	25	465.138962	18.605558		
-----					
Total corrigido	30	977.014097			
CV (%) =	5.51				
Média geral:	78.3296774	Número de observações:		31	

TABELA 16 Análise de variância para níveis séricos de HDL-Colesterol de ratos treinados e não-treinados suplementados com solução salina, glicose ou glicerol.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
SUBST	2	53.256219	26.628110	1.601	0.2225
EXERC	1	3.178110	3.178110	0.191	0.6659
SUBST*EXERC	2	83.613734	41.806867	2.514	0.1020
erro	24	399.117683	16.629903		
-----					
Total corrigido	29	539.165747			
CV (%) =	10.55				
Média geral:	38.6413333		Número de observações:	30	

TABELA 17 Análise de variância para níveis séricos de LDL+VLDL-Colesterol de ratos treinados e não-treinados suplementados com solução salina, glicose ou glicerol.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
SUBST	2	29.263590	14.631795	0.821	0.4520
EXERC	1	198.825121	198.825121	11.154	0.0027
SUBST*EXERC	2	498.521638	249.260819	13.983	0.0001
erro	24	427.819802	17.825825		
-----					
Total corrigido	29	1154.430150			
CV (%) =	10.41				
Média geral:	40.5550000		Número de observações:	30	

TABELA 18 Análise de variância para níveis séricos de Triacilgliceróis de ratos treinados e não-treinados suplementados com solução salina, glicose ou glicerol.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
SUBST	2	3.930016	1.965008	2.187	0.1332
EXERC	1	1.450100	1.450100	1.614	0.2156
SUBST*EXERC	2	6.437670	3.218835	3.583	0.0428
erro	25	22.459309	0.898372		
-----					
Total corrigido	30	34.277094			
CV (%) =	9.26				
Média geral:	10.2318650		Número de observações:	31	

TABELA 19 Análise de variância para glicemia em jejum de ratos treinados e não-treinados suplementados com solução salina, glicose ou glicerol.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
SUBST	2	233.166984	116.583492	0.826	0.4495
EXERC	1	782.668227	782.668227	5.544	0.0267
SUBST*EXERC	2	616.711496	308.355748	2.184	0.1336
erro	25	3529.306828	141.172273		
-----					
Total corrigido	30	5161.853535			
CV (%) =	9.64				
Média geral:	123.2538710		Número de observações:	31	

TABELA 20 Análise de variância para diâmetro de adipócitos de ratos treinados e não-treinados suplementados com solução salina, glicose ou glicerol.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
SUBST	2	649.045900	324.522950	3.505	0.0455
EXERC	1	486.626267	486.626267	5.255	0.0306
SUBST*EXERC	2	320.183323	160.091662	1.729	0.1980
erro	25	2314.899914	92.595997		
-----					
Total corrigido	30	3770.755403			
CV (%) =	11.67				
Média geral:	82.4892258		Número de observações:	31	

TABELA 21 Análise de variância para área de adipócitos de ratos treinados e não-treinados suplementados com solução salina, glicose ou glicerol.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
SUBST	2	402.899849	201.449925	3.680	0.0397
EXERC	1	272.542157	272.542157	4.978	0.0349
SUBST*EXERC	2	255.246830	127.623415	2.331	0.1179
erro	25	1368.646994	54.745880		
-----					
Total corrigido	30	2299.335829			
CV (%) =	11.39				
Média geral:	64.9639342		Número de observações:	31	

TABELA 22 Análise de variância para densidade de adipócitos de ratos treinados e não-treinados suplementados com solução salina, glicose ou glicerol.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
SUBST	2	50.553860	25.276930	3.634	0.0612
EXERC	1	13.866654	13.866654	1.994	0.1703
SUBST*EXERC	2	10.699590	5.349795	0.769	0.4741
erro	25	173.887271	6.955491		
-----					
Total corrigido	30	249.007375			
CV (%) =	14.66				
Média geral:	17.9955134	Número de observações:	31		

TABELA 23 Análise de variância para diâmetro de fibras do músculo gastrocnêmio de ratos treinados e não-treinados suplementados com solução salina, glicose ou glicerol.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
SUBST	2	43.281851	21.640925	1.117	0.3430
EXERC	1	7.879965	7.879965	0.407	0.5294
SUBST*EXERC	2	10.481113	5.240557	0.271	0.7652
erro	25	484.242420	19.369697		
-----					
Total corrigido	30	545.885348			
CV (%) =	10.97				
Média geral:	40.1187097	Número de observações:	31		

TABELA 24 Análise de variância para relação vilosidades:criptas do duodeno de ratos treinados e não-treinados suplementados com solução salina, glicose ou glicerol.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
SUBST	2	0.024998	0.012499	0.432	0.6542
EXERC	1	0.001443	0.001443	0.050	0.8252
SUBST*EXERC	2	0.318257	0.159128	5.503	0.0111
erro	23	0.665029	0.028914		
-----					
Total corrigido	28	1.009726			
CV (%) =	12.21				
Média geral:	1.3924089	Número de observações:	29		

TABELA 25 Análise de variância para relação vilosidades:criptas do jejuno de ratos treinados e não-treinados suplementados com solução salina, glicose ou glicerol.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
SUBST	2	0.174940	0.087470	4.260	0.0267
EXERC	1	0.132685	0.132685	6.462	0.0182
SUBST*EXERC	2	0.152144	0.076072	3.705	0.0403
erro	23	0.472245	0.020532		
-----					
Total corrigido	28	0.932013			
CV (%) =	10.05				
Média geral:	1.4258934	Número de observações:	29		

TABELA 26 Análise de variância para relação vilosidades:criptas do fêeo de ratos treinados e não-treinados suplementados com solução salina, glicose ou glicerol.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
SUBST	2	0.248761	0.124380	3.876	0.0342
EXERC	1	0.109390	0.109390	3.409	0.0767
SUBST*EXERC	2	0.075748	0.037874	1.180	0.3237
erro	25	0.802222	0.032089		
-----					
Total corrigido	30	1.236120			
CV (%) =	14.48				
Média geral:	1.2366954	Número de observações:	31		

TABELA 27 Comparação entre médias para os níveis de Aspartato aminotransferase antes e depois do exercício em ratos treinados e não-treinados suplementados com solução salina, glicose ou glicerol.

Treatment Name	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM
AST antes Glicerol	5	0	80,648	11,366	5,083
AST depois Glicerol	5	0	91,770	17,217	7,700
Difference	5	0	-11,122	7,411	3,314
t = -3,356 with 4 degrees of freedom. (P = 0,028)					
AST Antes Glicose	5	0	66,831	3,313	1,482
AST depois Glicose	5	0	77,619	12,858	5,750
Difference	5	0	-10,788	13,054	5,838
t = -1,848 with 4 degrees of freedom. (P = 0,138)					
AST antes salina	4	0	71,077	8,780	4,390
AST depois salina	4	0	136,877	23,368	11,684
Difference	4	0	-65,800	31,308	15,654
t = -4,203 with 3 degrees of freedom. (P = 0,025)					

TABELA 28 Comparação entre médias para a variação nos níveis de Aspartato aminotransferase entre antes e depois do exercício em ratos treinados e não-treinados suplementados com solução salina, glicose ou glicerol.

Comparison	Diff of Means	p	q	P	P<0,050
Salina vs. glicerol	55,014	3	6,206	0,003	Yes
Salina vs. glicose	54,679	2	6,168	0,001	Yes
Glicose vs. glicerol	0,334	2	0,0400	0,978	No

TABELA 29 Comparação entre médias para os níveis de Lactato antes e depois do exercício em ratos treinados e não-treinados suplementados com solução salina, glicose ou glicerol.

Treatment Name	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM
Lactato antes Glicerol	6	0	1,833	0,195	0,0798
Lactato depois Glicerol	6	1	2,917	0,858	0,384
Difference	6	1	-1,020	0,850	0,380
t = -2,684 with 4 degrees of freedom. (P = 0,055)					
Lactato Antes Glicose	5	0	2,281	0,674	0,301
Lactato depois Glicose	5	0	3,459	1,364	0,610
Difference	5	0	-1,178	0,760	0,340
t = -3,464 with 4 degrees of freedom. (P = 0,026)					
Lactato antes salina	4	0	1,927	0,110	0,0550
Lactato depois salina	4	0	4,391	0,642	0,321
Difference	4	0	-2,464	0,662	0,331
t = -7,440 with 3 degrees of freedom. (P = 0,005)					

TABELA 30 Comparação entre médias para a variação nos níveis de Lactato entre antes e depois do exercício em ratos treinados e não-treinados suplementados com solução salina, glicose ou glicerol.

Comparison	Diff of Means	p	q	P	P<0,050
Salina vs. glicerol	1,866	3	4,110	0,033	Yes
Salina vs. glicose	1,286	2	2,725	0,078	No
Glicose vs. glicerol	0,580	2	1,362	0,355	No