

EFEITO DO TREINAMENTO FÍSICO SOBRE O PERFIL METABÓLICO E ÓSSEO DE RATOS RECÉM-DESMAMADOS



EFFECT OF PHYSICAL TRAINING ON METABOLIC AND BONE PROFILE IN WEANLING RATS

Luciana Mendonça Arantes¹
Natalia Oliveira Bertolini¹
José Alexandre Leme¹
Bruno Augusto Ribeiro do Vale¹
Eliete Luciano¹

1. UNESP – Universidade Estadual Paulista, Júlio de Mesquita Filho, Campus de Rio Claro, São Paulo, Brasil.

Correspondência:

Departamento de Educação Física, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Rio Claro. Rua 24 A, 1.515, Bela Vista - 13506-900. Rio Claro, SP, Brasil
E-mail: lumarantes@hotmail.com

RESUMO

Introdução: A prática de exercícios de intensidade moderada pode reduzir o risco de infecções e melhorar os aspectos metabólicos do indivíduo. **Objetivo:** Investigar os efeitos do treinamento físico aeróbio sobre os aspectos metabólicos, ósseo e sistema imunológico. **Métodos:** Vinte ratos machos, recém-desmamados, foram distribuídos em dois grupos experimentais: grupo sedentário (GS) e grupo treinado (GT). O GT foi submetido a um protocolo de natação, durante seis semanas consecutivas. Ao final do período experimental, foi realizada a contagem total e diferencial de leucócitos e hematócrito. Após o sacrifício, foram analisados: glicose, proteínas totais, triglicérides, colesterol; amostras do fígado e músculo para a determinação dos teores de glicogênio; e tibia para determinação do comprimento e área óssea. Os dados foram analisados pela análise de variância ANOVA one-way e o nível de significância estabelecido foi $p < 0,05$. **Resultados:** O hematócrito (%) analisado apresentou diferença significativa, com maior valor para o GT ($54,63 \pm 1,41$) que para o GS ($49,5 \pm 1,65$). A contagem total de leucócitos não apresentou diferença significativa, assim como também não houve diferença na contagem diferencial. O colesterol total apresentou relevante diminuição no GT ($GT = 68,27 \pm 13,71$ mg/dL; $GS = 94,44 \pm 28,09$); os níveis de proteínas totais também apresentaram importante redução ($GT = 7,3 \pm 0,40$ g/dL; $GS = 7,74 \pm 0,36$ g/dL); os níveis de glicose e triglicérides não apresentaram diferenças significativas. Já o comprimento ósseo apresentou diferença significativa, com o comprimento do tibial do GT ($40 \pm 0,14^*$ mm) sendo menor que o GC ($42,10 \pm 0,12$ mm). A área tibial demonstrou menor valor para o GT ($1,53 \pm 0,12$ cm²) que para o GS ($1,67 \pm 0,18$ cm²), entretanto, a diferença não foi estatisticamente significante. **Conclusão:** O treinamento físico aeróbio é capaz de produzir algumas modificações fisiológicas peculiares em ratos jovens.

Palavras-chave: treinamento físico, aspectos metabólicos, sistema imunológico.

ABSTRACT

Introduction: The practice of moderate-intensity exercise can reduce the risk of infections and improve metabolic aspects of the person. **Objective:** To investigate the effects of aerobic physical training on endocrine and metabolic aspects, bone and immune system. **Methods:** Twenty Wistar rats were divided in two groups: sedentary (GS) and trained group (TG). Training program consisted in swimming, 6 weeks, supporting a workload corresponding to 5% of body weight. At the end of the experiment, were performed counting total and differential leukocyte count and hematocrit. After training period, were analyzed glucose, total protein, triglycerides, cholesterol, liver and muscle samples for the determination of the levels of glycogen, and determination of the tibia length and bone area. All dependent variables were analyzed by one-way analysis of variance (ANOVA) and a significance level of $P < 0.05$ was used for all comparisons. **Results:** Hematocrit (%) analyzed showed a significant difference, with higher values for TG (54.63 ± 1.41) than for the GS (49.5 ± 1.65). The total leukocyte count was not significantly different, as there was no difference in the differential count. Total cholesterol showed significant decrease in GT ($GT = 68.27 \pm 13.71$ mg/dL; $GS = 94.44 \pm 28.09$), the total protein levels also showed significant reduction ($GT = 7.3 \pm 0.40$ g/dL; $GS = 7.74 \pm 0.36$ g/dL) glucose levels and triglyceride showed no significant differences. The bone length showed a significant difference ($GT = 40 \pm 0.14$ mm; $CG = 42.10 \pm 0.12$ mm). The tibial area showed the lowest value for the GT (1.53 ± 0.12 cm²) than for the GS (1.67 ± 0.18 cm²) however the difference was not statistically significant. **Conclusion:** It can be concluded that aerobic exercise training is able to produce some unique physiological changes in young rats. There is also the need to prescribe exercises that meet the particular maturational stage of development.

Keywords: physical training, metabolic aspects, immune system.

INTRODUÇÃO

Na última década, jovens têm se destacado em vários esportes¹, que exigem alto grau de habilidade motora e treinamento¹. Além disso, a busca por uma aparência estipulada pela mídia também leva adolescentes à procura de atividades físicas e/ou esportivas de alta intensidade e volume de treino². Devido à dominância dos impulsos cerebrais e à menor sensação de esforço de movimento, crianças apresentam maior atividade motora que adultos³, além de maior metabolismo basal

mediado pelos intensivos processos de crescimento e diferenciação⁴, aumentando a necessidade de vitaminas, minerais e nutrientes, principalmente proteínas⁵.

Treinos extenuantes, nessa fase da vida, podem acarretar uma predominância do metabolismo funcional sobre o estrutural, que pode prejudicar os processos de crescimento e diminuir a capacidade de suporte de carga⁶. Na infância, os ossos são mais flexíveis, menos resistentes à pressão e à tração; o tecido dos tendões e ligamentos é

insuficientemente resistente à tração, e o tecido cartilaginoso e discos epifisários não ossificados, possuem grande risco de dano sob forças de pressão e torção devido à alta taxa de divisão, regulada pelo crescimento⁵. Desse modo, crianças e adolescentes são mais suscetíveis a danos de carga que adultos, principalmente durante a puberdade⁷. Segundo Mackelvieet *et al.*⁸, cargas unilaterais ou máximas podem causar, imediatamente ou em longo prazo, distúrbios teciduais.

O aumento da massa óssea durante e imediatamente após o crescimento é apontado como importante estratégia de prevenção da osteoporose; e um incremento de 3 a 5% na densidade mineral óssea reduz o risco de fraturas em 20 a 30%⁸. Evidências indicam que os efeitos das atividades físicas sobre a massa óssea são potencializados em período próximo ao pico máximo de velocidade de crescimento¹⁵, melhorando a densidade mineral óssea de crianças e adolescentes atletas.

Basset *et al.*¹¹ concluíram que a densidade mineral óssea uma vez aumentada pelo exercício físico, durante a juventude, tem efeito na vida adulta, com benefícios estendidos por décadas após a interrupção do treinamento. Entretanto, com treinamento extenuante, os efeitos benéficos sobre a saúde óssea podem ser reduzidos ou até neutralizados² causando, comumente, fraturas por estresse¹⁴.

Durante o crescimento, a velocidade de adaptação do aparelho locomotor passivo (tecido ósseo e cartilaginoso) é mais lenta que a do aparelho locomotor ativo (tecido muscular), e se vinculada à alta suscetibilidade a sobrecargas, necessita de uma progressão rígida de carga, com estímulos apropriados (submáximos) em crianças, solicitando de forma múltipla o aparelho locomotor passivo, garantindo às suas estruturas um tempo adaptativo adequado, evitando a ultrapassagem do limite de carga, que resulta em lesões⁷ e influenciando positivamente o crescimento e sua estruturação.

A prática de exercício físico crônico aeróbico resulta em importante melhora na atividade insulínica^{15,16} e na captação de glicose induzida por insulina nos tecidos muscular, hepático e adiposo através de um processo associado à contração muscular, com ativação dos transportadores de glicose através da insulina e do exercício por distintos mecanismos¹⁷. Ratos Wistar, submetidos à natação diária de 1h/dia com carga de 5% do peso corporal ao longo de 30 dias, manifestaram aumento significativo do glicogênio muscular em relação aos sedentários¹⁸, provavelmente devido ao aumento da demanda de glicogênio imposta pelo exercício.

Há uma grande quantidade de estudos realizados com adultos acerca dos efeitos da atividade física sobre o sistema imunológico, enquanto trabalhos com jovens atletas são escassos na literatura científica específica. Pesquisas mostram que a atividade física pode causar modificações na concentração, proporção e função das células brancas sanguíneas, sobretudo nos leucócitos polimorfo nucleares, nas células matadoras naturais (*natural killers*), e nos linfócitos, acometendo também as imunoglobulinas, além de outros fatores¹⁹.

O cortisol e as catecolaminas, além de metabólitos ativos, também ocasionam uma redistribuição dos leucócitos, determinando uma ação imunossupressora²⁰. Apesar de muito discutida, alguns cientistas apontam a existência de uma "janela aberta" em um período de três a 72 horas após a prática do exercício, quando vírus e bactérias teriam um acesso facilitado ao organismo, fato que poderia ser potencializado com a má nutrição e diminuição das horas de sono²¹.

A prática de exercícios de intensidade moderada pode reduzir o risco de infecções²², porém, vários estudos demonstram que a prática de exercícios intensos de longa duração deprime o sistema imune²³, e eleva o risco de infecções nas vias aéreas superiores^{24,25}.

Segundo Mackinnon²⁵, o exercício físico pode atenuar a função dos neutrófilos em atletas submetidos ao treinamento intenso, a capacidade de proliferação dos linfócitos é aumentada após exercício moderado e diminuída após exercício intenso, e o exercício agudo modifica profundamente e de forma transitória o número e a distribuição relativa dos diversos leucócitos na circulação sanguínea, retornando aos níveis basais em cerca de 24 horas após o exercício.

Estudo realizado por Oliveira²⁶ em ratos submetidos ao treinamento físico intenso não demonstrou modificações no número total ou diferencial da maior parte dos leucócitos, entretanto, indicou elevação do número de monócitos no grupo treinado em relação ao grupo sedentário, sugerindo melhora da resposta imunológica em consequência do treinamento físico.

Assim, o objetivo do presente estudo foi avaliar os efeitos do treinamento físico aeróbico sobre aspectos endócrinos e metabólicos, e sobre o tecido ósseo e sistema imunológico em ratos recém-desmamados.

MATERIAIS E MÉTODOS

Animais e seu tratamento

Foram utilizados ratos Wistar (*Rattus norvegicus albinus albinus*, Wistar) com 30 dias de idade. Os animais, provenientes do Biotério Central da UNESP – Botucatu, foram mantidos no Biotério do Laboratório de Biodinâmica do Departamento de Educação Física do Instituto de Biociências – UNESP – Rio Claro. Os animais foram alimentados com ração balanceada padrão (Purina[®]) e água *ad libitum*, e distribuídos em gaiolas coletivas (com cinco ratos por gaiola) à temperatura ambiente controlada de 25°C e fotoperíodo de 12 h claro/12 h escuro.

Protocolo de treinamento

Os animais foram distribuídos em dois grupos (n = 10 ratos por grupo): grupo sedentário (GS) e grupo treinado (GT). O protocolo de exercício consistiu de natação cinco vezes/semana, 1 hora/dia, durante seis semanas, com sobrecarga de 5% em relação ao peso corporal do rato, que foi acoplada com elástico ao tronco dos animais. A temperatura da água foi mantida entre 31°C e 32°C por ser considerada termicamente neutra em relação à temperatura corporal do rato.

Avaliações prévias ao sacrifício

Durante o período experimental, foram feitas, para fins de registros e posterior análise, mensurações relativas ao peso, ingestão alimentar e hídrica dos animais. Após o período experimental, foram coletadas amostras de sangue para avaliação dos seguintes parâmetros: contagem total de leucócitos e contagem diferencial de leucócitos.

Avaliações após o sacrifício dos animais

Ao término do período experimental, os ratos de cada grupo foram mantidos em repouso por 48 horas em relação à última sessão de exercício, sem jejum prévio. O sacrifício deu-se por decapitação em guilhotina, e foram retiradas amostras teciduais e de sangue (centrifugação à 3.000 rpm) para avaliação de diversos parâmetros: glicose sérica; proteínas totais séricas; triglicérides sérico; colesterol total sérico; hematócrito; glicogênio do músculo gastrocnêmio e do fígado e determinação do comprimento e área das tíbias.

Análise estatística

Os resultados foram avaliados estatisticamente por meio do teste *t* de Student, com nível de significância estabelecido em 5% (p < 0,05). Os resultados foram expressos como média ± desvio padrão.

RESULTADOS

Pode-se observar o peso corporal (g) na tabela 1. Os valores de ingestão alimentar (g/100 g p.c.) e ingestão hídrica (mL/100 g p.c.) estão apresentados na tabela 1 e figura 1.

As figuras 1 e 2 demonstram a ingestão hídrica e alimentar dos grupos experimentais.

Tabela 1. Parâmetros gerais dos ratos sedentários (GS) e treinados (GT) avaliados durante o período experimental.

| Grupo | Peso corporal (g) | Ingestão alimentar (g/100 g p.c.) | Ingestão hídrica (mL/100 g p.c.) |
|-------|-------------------|-----------------------------------|----------------------------------|
| GS | 325,01 ± 76,43 | 18,4 ± 6,3 | 10,4 ± 3 |
| GT | 276,5 ± 53,67 | 26,3 ± 4,3* | 21,4 ± 2* |

Valores expressos em média ± desvio padrão. * indica diferença entre os grupos (teste t de Student, p < 0,05). GS = grupo sedentário - GT = grupo treinado.

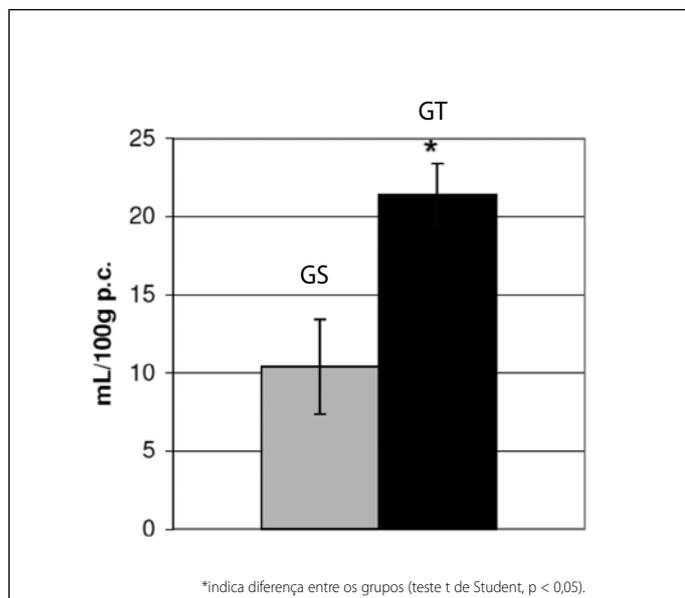


Figura 1. Ingestão hídrica média dos grupos experimentais.

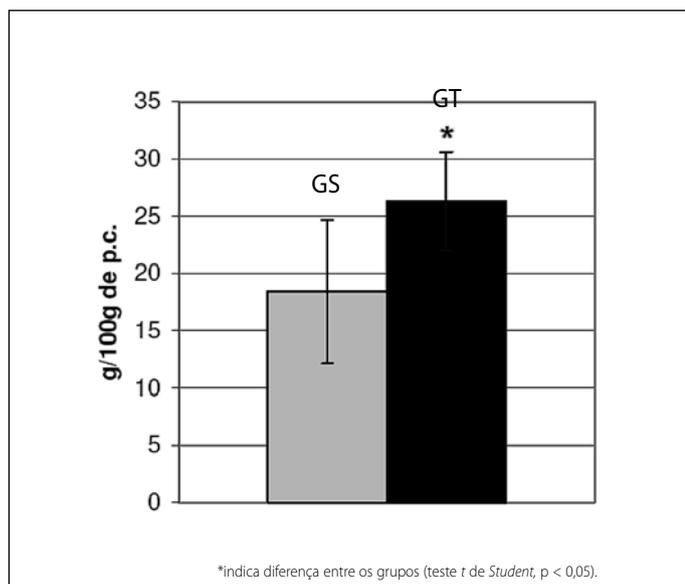


Figura 2. Ingestão alimentar média dos grupos experimentais.

Na tabela 2 e figura 3 podemos observar o comportamento do hematócrito (%). A contagem total de leucócitos (número de células/mm³ de sangue) de ratos sedentários e treinados estão apresentados na tabela 2.

Tabela 2. Hematócrito e contagem total de leucócitos.

| Grupo | Hematócrito (%) | Leucócitos (número de células/mm ³ de sangue) |
|-------|-----------------|--|
| GS | 49,5 ± 1,65 | 12.280 ± 2.689 |
| GT | 54,63 ± 1,41* | 13.331 ± 2.822* |

Valores expressos em média ± desvio padrão. * indica diferença entre os grupos (teste t de Student, p < 0,05). GS = grupo sedentário GT = grupo treinado.

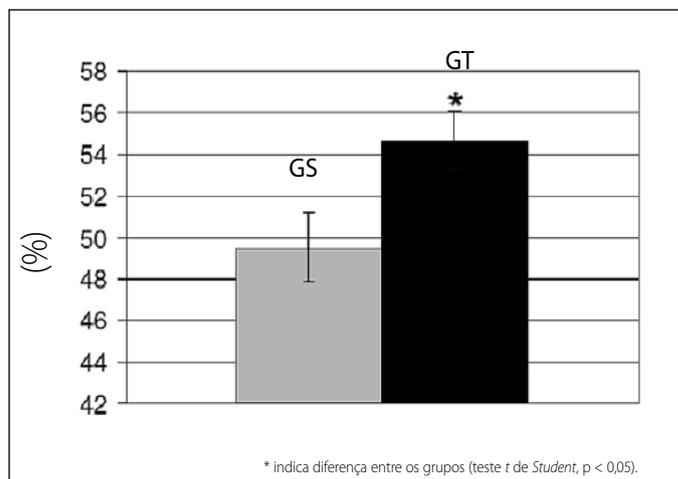


Figura 3. Hematócrito (%).

A contagem diferencial de leucócitos (%) de ambos os grupos experimentais estão apresentados na tabela 3. As avaliações séricas, como: glicose (mg/dL); colesterol (mg/dL); proteínas (g/dL) e triglicérides (mg/dL) podem ser observadas na tabela 4.

Tabela 3. Contagem diferencial de leucócitos (%) de ambos os grupos experimentais.

| Grupo | Neutrófilos | Linfócitos | Monócitos | Eosinófilos |
|-------|-------------|------------|------------|-------------|
| GS | 18,5 ± 5,9 | 77,4 ± 5 | 2,5 ± 1,8 | 1,6 ± 1 |
| GT | 18,1 ± 10,5 | 77,3 ± 11 | 3,3 ± 1,6* | 1,4 ± 0,9 |

Valores expressos em média ± desvio padrão. * indica diferença entre os grupos (teste t de Student, p < 0,05). GS = grupo sedentário, GT = grupo treinado.

Tabela 4. Avaliações séricas obtidas no final do experimento.

| Grupo | Glicose (mg/dL) | Colesterol (mg/dL) | Proteínas (g/dL) | Triglicérides (mg/dL) |
|-------|-----------------|--------------------|------------------|-----------------------|
| GS | 130,22 ± 21,80 | 94,44 ± 28,09 | 7,74 ± 0,36 | 249,7 ± 68,66 |
| GT | 149,44 ± 22,83 | 68,27 ± 13,71* | 7,3 ± 0,4* | 284,53 ± 77,29 |

Valores expressos em média ± desvio padrão. * indica diferença entre os grupos (teste t de Student, p < 0,05). GS = grupo sedentário, GT = grupo treinado.

As avaliações da tíbia obtidas ao final do experimento como: peso tibial (mg); comprimento tibial (mm) e área tibial (cm²) estão apresentadas na tabela 5. O comprimento tibial (mm) e a área tibial (cm²) também podem ser observados nas figuras 4 e 5, respectivamente.

Tabela 5. Avaliações da tíbia obtidas ao final do experimento.

| Grupo | Peso tibial (mg) | Comprimento tibial (mm) | Área tibial (cm ²) |
|-------|------------------|-------------------------|--------------------------------|
| GS | 662,38 ± 75,23 | 42,1 ± 0,12 | 7,74 ± 0,36 |
| GT | 703,4 ± 63,59 | 68,27 ± 13,71* | 7,3 ± 0,4* |

Valores expressos em média ± desvio padrão. * indica diferença entre os grupos (teste t de Student, p < 0,05). GS = grupo sedentário, GT = grupo treinado.

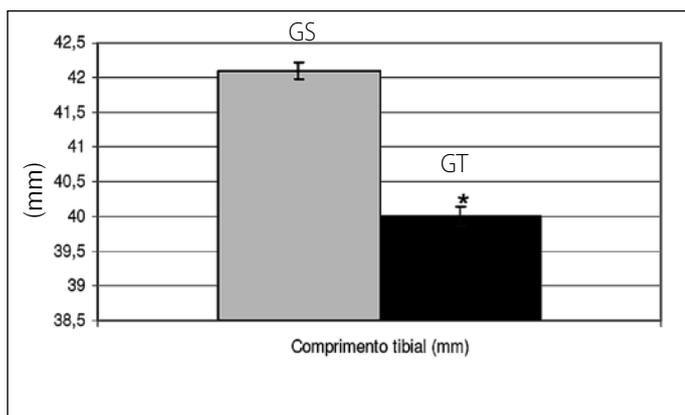


Figura 4. Avaliação do comprimento tibial dos grupos experimentais.

* indica diferença entre os grupos (teste t de Student, $p < 0,05$).

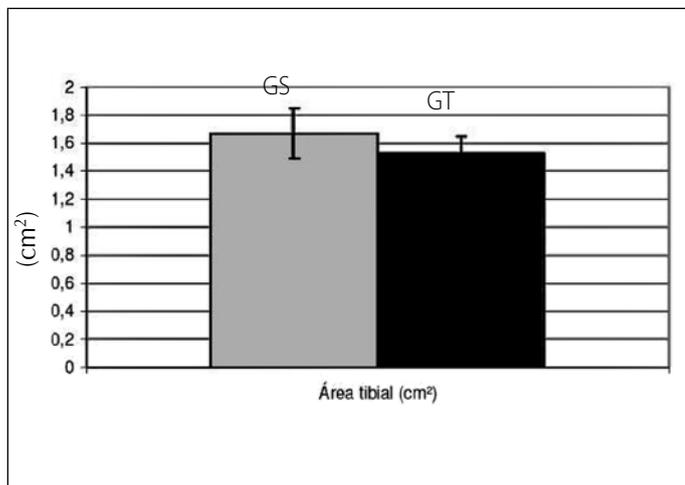


Figura 5. Avaliação da área tibial dos grupos experimentais.

DISCUSSÃO

Os resultados indicam algumas particularidades nos efeitos do treinamento aeróbio em ratos recém-desmamados. Os registros de ingestão hídrica acompanhados semanalmente demonstram uma compensação adaptativa (tabela 1; figura 1), com valor de ingestão hídrica média maior no GT ($21,4 \pm 2,0$ mL/100 g de rato) que no GS ($10,4 \pm 3,0$ mL/100 g de rato). A ingestão alimentar média de GT também foi maior (GT = $26,3 \pm 4,3$ g/100 g de rato; GS = $18,4 \pm 6,3$ g/100 g de rato), demonstrando também uma compensação alimentar devida à demanda energética aumentada pelo treinamento (tabela 1; figura 2). Isso pode ser confirmado pela ausência de diferença significativa entre os grupos quanto ao peso corporal médio (tabela 1), relativo a todo o período experimental (GT = $276,50 \pm 53,67$ g; GS = $325,01 \pm 76,43$ g), o que pode ter ocorrido pelo aumento contínuo e progressivo do gasto e da reposição energética, com maior consumo de alimento pelos ratos treinados²⁷.

O hematócrito (%) analisado apresentou diferença significativa, com maior valor para o GT ($54,63 \pm 1,41$) que para o GS ($49,50 \pm 1,65$), o que deve representar uma adição na quantidade de glóbulos vermelhos em resposta ao treinamento físico, a fim de tornar mais eficiente o transporte de gases pelo processo de respiração (tabela 2; figura 3). A contagem total de leucócitos (GT = 13.331 ± 2.822 células/mm³ de sangue; GS = 12.280 ± 2.689 células/mm³ de sangue) não apresentou diferença estatisticamente significativa (tabela 2), assim como também não houve diferença na contagem diferencial (tabela 3), indicando que não houve influência do treinamento no sistema imunológico quanto aos parâmetros avaliados. Em relação a alguns parâmetros séricos, algumas importantes modificações aconteceram (tabela 4), ainda mais em se tratando de ratos no período desenvolvimental em questão. O colesterol

total apresentou relevante diminuição no GT (GT = $68,27 \pm 13,71$ mg/dL; GS = $94,44 \pm 28,09$ mg/dL), remetendo-nos à eficiência do treinamento aeróbio regular como fator preventivo às coronariopatias também em ratos recém-desmamados. Os níveis de proteínas totais também apresentaram importante redução (GT = $7,30 \pm 0,40$ g/dL; GS = $7,74 \pm 0,36$ g/dL), refletindo o anabolismo tecidual a que está sujeito o GT, com diminuição da proteína circulante, que é absorvida pelos tecidos de forma mais acentuada^{28,29}. Quanto aos níveis de glicose (GT = $149,44 \pm 22,83$ mg/dL; GS = $130,22 \pm 21,80$ mg/dL) e triglicérides (GT = $284,53 \pm 77,29$ mg/dL; GS = $249,70 \pm 68,66$ mg/dL), estes não apresentaram diferenças significativas. Devido à importância da glicose no metabolismo do tecido nervoso, já era de se prever que o índice glicêmico poderia manter-se sem significantes alterações, já que é habitualmente regulado dentro de limites muito estreitos. Em relação ao triglicérides, em geral, os programas padronizados de treinamento aeróbio não exercem importante influência sobre os níveis séricos de triglicérides²⁹. Analisando-se os níveis de glicogênio hepático (GT = $3,31 \pm 0,76$ mg/100 mg; GS = $3,24 \pm 0,93$ mg/100 mg) e muscular (GT = $7,54 \pm 1,93$ mg/100 mg; GS = $6,03 \pm 2,13$ mg/100 mg), não foram encontradas diferenças significativas, contudo, observando os resultados para o glicogênio muscular, pode-se identificar maior valor para o grupo treinado, indicando tendência de aumento. Talvez, com uma sobrecarga mais individualizada, levando-se, por exemplo, em consideração o limiar anaeróbio dos ratos, possivelmente encontrar-se-ia diferença significativa, pois já está bastante relatado na literatura científica que o treinamento regular produz diferenças nos níveis glicogênicos musculares³⁰.

Quanto aos aspectos relacionados ao tecido ósseo, analisando-se a tabela 5, podemos conferir que o peso ósseo não demonstrou diferença significativa entre os grupos. Já o comprimento ósseo (figura 4) apresentou importante modificação, o comprimento tibial do GT ($40,00 \pm 0,14$ mm) foi menor que o GC ($42,10 \pm 0,12$ mm). A área tibial (figura 5) demonstrou menor valor para o GT ($1,53 \pm 0,12$ cm²) que para o GS ($1,67 \pm 0,18$ cm²), entretanto, a diferença não foi estatisticamente significativa. Observando-se os dados, pode-se inferir que o treinamento aplicado aos ratos foi capaz de trazer modificações quanto à estrutura óssea, mesmo levando em consideração que apenas o comprimento tibial apresentou diferença estatisticamente significativa. Pelos ratos estarem num período desenvolvimental de acelerado metabolismo, os dados indicam que o protocolo de treinamento pode ter contribuído negativamente no crescimento ósseo dos jovens ratos, refletindo-se no peso ósseo, que apresentou tendência de aumento nos ratos submetidos ao treinamento físico, e também na área tibial, que teve tendência de redução no GT. Pode-se prever que uma maior densidade óssea pode ter sido resultante nos ratos treinados, adquirindo-se uma ossatura mais compacta, e, portanto, de menores área e comprimento tibial, mas de maior peso ósseo.

CONCLUSÃO

O treinamento físico regular é capaz de produzir algumas modificações fisiológicas peculiares em ratos jovens, principalmente no que diz respeito aos aspectos hematológicos, metabólicos e estrutural ósseo. Verifica-se a necessidade de prescrição de exercícios que atendam às particularidades desenvolvimentais do estágio maturacional em questão, levando-se em consideração que determinados volumes e intensidades de treinamento podem ser capazes tanto de atribuir benefício quanto prejuízos a quem se aplica o treinamento regular. O protocolo de treinamento aplicado interferiu no hematócrito e nos níveis normais de proteínas e colesterol, sendo que, neste último parâmetro, demonstra o exercício, também em ratos jovens, ser importante meio de combate às coronariopatias. Também interfere na morfologia óssea, sendo capaz de impedir o crescimento ósseo normal em ratos recém-desmamados.

Todos os autores declararam não haver qualquer potencial conflito de interesses referente a este artigo.

REFERÊNCIAS

1. Guy JÁ, Micheli LJ. Strength training for children and adolescents. *J Am Acad Orthop Surg* 2001;9:29-36.
2. Silva CS, Teixeira AS, Goldberg TBL. O esporte e suas implicações na saúde óssea de atletas adolescentes. *Rev Bras Med Esporte* 2003;9:426-31.
3. Le Boulch J. Desenvolvimento psicomotor: do nascimento até os 6 anos. 2a. ed. Porto Alegre: Art-med, 2000.
4. Bouchard CRM, Pérusse L. Genetics of fitness and physical performance. Champaign: Human Kinetics Publishers, 1997.
5. Weineck J. *Biologia do Esporte*. 7a. ed. São Paulo: Manole, 2005.
6. Georgopoulos N, Markou K, Theodoropoulou A, Paraskevopoulou P, Varaki L, Kazantzi Z, et al. Growth and pubertal development in elite female rhythmic gymnasts. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84:525-30.
7. Hogan KA, Gross RH. Overuse injuries in pediatric athletes. *Orthop Clin North Am* 2003;34:405-15.
8. Mackelvie KJ, Khan KM, McKay HA. Is there a critical period for bone response to weight-bearing exercise in children and adolescents? *Br J Sports Med* 2002;36:250-7.
9. Pettersson U, Nordström P, Alfredson H, Henriksson-larsen K, Lorentzon R. Effect of high impact activity on bone mass and size in adolescent females: a comparative study between two different types of sports. *Calcif Tissue Int* 2000;67:207-14.
10. Bass SG, Pearce M, Hendrich E, Delmas PD, Harding A, Seeman E. Exercise before puberty may confer residual benefits in bone density in adulthood: studies in active prepubertal and retired female gymnasts. *J Bone Miner Res* 1998;13:500-7.
11. Parker AW. Physical activity and skeletal health in children. In: Chan KM, Micheli LJ, editors. *Sports and Children*. Hong Kong: Williams and Wilkins, 1998;17-38.
12. Turner CH, Robling AG. Designing exercise regimens to increase bone strength. *Exerc Sport Sci Rev* 2003;31:45-50.
13. Oeppen RS, Jaramillo D. Sports injuries in the young athlete. *Top Magn Reson Imaging* 2003;14:199-208.
14. Rodnick KJ, Haskell WL, Swislocki AL, Foley JE, Reaven GM. Improved insulin action in muscle, liver and adipose tissue in physically trained human subjects. *Am J Physiol* 1987;253:E489-95.
15. Dengel DR, Hagberg JM, Pratley RE, Rogus EM, Goldberg AP. Improvements in blood pressure, glucose metabolism, and lipoprotein lipids after aerobic exercise plus weight loss in obese, hypertensive middle-aged men. *Metabolism* 1998;47:1075-82.
16. Luciano E, Carneiro EM, Carvalho CR, Carvalheira JB, Peres SB, Reis MA, et al. Endurance training improves responsiveness to insulin and modulates insulin signal transduction through the phosphatidylinositol 3-Kinase/ Akt-1 pathway. *Eur Endocrinol* 2002;147:149-57.
17. Gomes RJ, Caetano FH, Mello MAR, Luciano E. Effects of chronic exercise on growth factors in diabetic rats. *J Exerc Physiol Online* 2005;8:16-23.
18. Eichner ER. Contagious infections in competitive sports. *Sports Sci* 1995;8:1-4.
19. Nieman DC. Immunity in athletes: current issues. *Sports Sci* 1998;11:1-11.
20. Nieman DC. Exercise effects on systemic immunity. *Immunol Cell Biol* 2000;78:496-501.
21. Nieman DC. Exercise, infection and immunity. *Int J Sports Med* 1994;15:131-41.
22. Pedersen BK, Rohde T, Zacho M. Immunity in athletes. *J Sports Med Phys Fitness* 1996;36:236-45.
23. Nieman DC, Nehlsen-Cannarella SL, Markoff PA, Balklamberton AJ, Yang H, Chritton DB, et al. The effects of moderate exercise training on natural killer cells and acute upper respiratory tract infections. *Int J Sports Med* 1990;11:467-73.
24. Foster C. Monitoring training in athletes with reference to overtraining syndrome. *Med Sci Sports Exerc* 1998;30:1164-8.
25. Mackinnon LT. Chronic exercise training effects on immune function. *Med Sci Sports Exerc* 2000;32:5369-76.
26. Oliveira CAM, Rogatto GP, Luciano E. Efeitos do treinamento físico de alta intensidade sobre os leucócitos de ratos diabéticos. *Rev Bras Med Esporte* 2002;8:219-24.
27. Borer KT. Characteristics of growth-inducing exercise. *Physiol Behav* 1979;24:713-20.
28. Prado ES, Dantas EHM. Efeitos dos Exercícios Físicos aeróbios e de força nas lipo-proteínas HDL, LDL e Lipoproteína (a). *Arq Bras Cardiol* 2002;79:429-33.
29. McArdle WD, Katch FI, Katch VL. *Fisiologia do exercício: energia, nutrição e desempenho humano*. 5a. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003.
30. Wilson JD, Foster DW. *William Textbook of Endocrinology*. 8th ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1992.