



Artigo original

Efeitos da suplementação nutricional com L-arginina no reparo de lesões por estiramento muscular. Estudo experimental em ratos[☆]



Lauren Izabel Medeiros Couto, William Luiz Wuicik, Ivan Kuhn, Juan Rodolfo Vilela Capriotti e João Carlos Repka*

Departamento de Ortopedia e Traumatologia, Hospital Angelina Caron, Campina Grande do Sul, PR, Brasil

INFORMAÇÕES SOBRE O ARTIGO

Histórico do artigo:

Recebido em 16 de abril de 2014

Aceito em 11 de agosto de 2014

On-line em 3 de julho de 2015

Palavras-chave:

Músculos/lesão

Arginina

Regeneração

Ratos

R E S U M O

Objetivo: Avaliar a influência da suplementação oral com arginina na regeneração de lesão por estiramento do músculo tibial anterior de ratos.

Método: Usaram-se 24 ratos Wistar (492,5 ± 50,45 gramas), induzidos com lesão por estiramento dos músculos tibiais anteriores e separados em três grupos com oito ratos cada. No grupo não tratado (GNT), após a indução das lesões, os ratos foram observados por 24 horas, nos grupos simulação (GS) e arginina (GA) receberam, por gavagem diariamente, respectivamente solução salina isotônica e solução de arginina, durante sete dias. Ao término dos períodos foram coletadas amostras de sangue para as avaliações séricas de creatina-quinase (CK), desidrogenase láctica (LDH), aspartato-aminotransferase (AST) e proteína C reativa (PCR). Foram ressecados os músculos tibiais anteriores (direitos e esquerdos) para avaliações histopatológicas das lesões musculares e pesquisa de edema, hemorragia, desorganização ou alteração morfológica das fibras musculares. E foi feita a reparação tecidual, para pesquisa da proliferação de tecido adiposo, angiogênese e fibras colágenas. Empregaram-se os testes ANOVA e t de Student com $p \leq 0,05$ para significação estatística.

Resultados: Nas avaliações séricas o GA mostrou valores menores nas dosagens de CPK e maiores nas dosagens de AST. Nas avaliações histopatológicas, no GNT foram evidenciados edema e hemorragia compatíveis com lesões por estiramento, no GS edema, hemorragia com proliferação de tecido adiposo e fibras colágenas e no GA. Além dos achados do GS destacou-se intensa angiogênese.

Conclusão: A suplementação oral com arginina não causou alterações metabólicas importantes que contraindiquem seu uso e induziu angiogênese durante a reparação de lesões musculares por estiramento.

© 2015 Sociedade Brasileira de Ortopedia e Traumatologia. Publicado por Elsevier Editora Ltda. Todos os direitos reservados.

[☆] Trabalho feito na Coordenação de Ensino e Pesquisa, Hospital Angelina Caron, Campina Grande do Sul, Paraná, Brasil.

* Autor para correspondência.

E-mails: repka@hospitalcaron.com.br, jcdrepka@gmail.com (J.C. Repka).

<http://dx.doi.org/10.1016/j.rbo.2014.08.014>

0102-3616/© 2015 Sociedade Brasileira de Ortopedia e Traumatologia. Publicado por Elsevier Editora Ltda. Todos os direitos reservados.

Effects of nutritional supplementation with L-arginine on repair of injuries due to muscle strain: experimental study on rats

A B S T R A C T

Keywords:
Muscles/injury
Arginine
Regeneration
Rats

Objective: To evaluate the influence of oral supplementation with arginine on regeneration of injuries due to straining of the anterior tibial muscle of rats.

Method: Twenty-four Wistar rats of weight 492.5 ± 50.45 grams were used. Injuries were induced through straining the anterior tibial muscles. The rats were separated into three groups of eight rats each. In the untreated group (UTG), after induction of injuries, the rats were observed for 24 hours. In the simulation group (SG) and the arginine group (AG) respectively, the rats received isotonic saline solution and arginine solution via direct gavage, over a seven-day period. At the end of the period, blood samples were collected for serum evaluations of creatine kinase (CK), lactic dehydrogenase (LDH), aspartate aminotransferase (AST) and C-reactive protein (CRP). The right and left anterior tibial muscles were resected for histopathological evaluations on the muscle injuries, investigating edema, hemorrhage and disorganization or morphometric alteration of the muscle fibers. The tissue repair was investigated in terms of proliferation of adipose tissue, angiogenesis and collagen fibers. The ANOVA and Student's t methods were used and $p \leq 0.05$ was taken to be statistically significant.

Results: In the serum evaluations, the AG showed lower CK assay values and higher AST values. In the histopathological evaluation, the UTG presented edema and hemorrhage compatible with injuries due to strain; the SG presented edema and hemorrhage with proliferation of adipose tissue and collagen fibers; and the AG presented not only the findings of the SG but also, especially, intense angiogenesis.

Conclusion: Oral supplementation with arginine did not cause any significant metabolic alterations that would contraindicate its use and it induced angiogenesis during the repair of muscles injured due to strain.

© 2015 Sociedade Brasileira de Ortopedia e Traumatologia. Published by Elsevier Editora Ltda. All rights reserved.

Introdução

Atividade física é uma das formas de retardar o desenvolvimento das doenças crônicas não transmissíveis e novos conhecimentos sobre os efeitos agudos e crônicos do exercício físico colaboraram para que um número cada vez maior de estudos comprove e relate os seus benefícios para a saúde.¹ Diante dessa evidência, bem como da disseminação de academias de esportes e de novas possibilidades da sua prática, aumentou também a ocorrência de diferentes formas de traumas pela demanda exagerada de força muscular e em especial por muitas práticas mal ou não orientadas por profissionais da área.^{2,3} Os traumas musculares representam alto número de lesões no esporte profissional e recreativo e podem ocorrer por meio de vários mecanismos e têm resultado no aumento proporcional de estudos relacionados não somente com o processo de regeneração muscular, mas também em novas opções terapêuticas das diversas lesões que acometem o sistema musculoesquelético.⁴ A imobilização geralmente é o método de escolha para o tratamento dessas lesões, embora incorra em alterações estruturais como atrofia, proliferação de tecido conectivo, fibrose, perda da extensibilidade e resistência muscular, além de desordens metabólicas.^{5,6} Entre as modalidades terapêuticas são usadas as associações entre imobilização, baixa temperatura no local, compressão e

elevação, ultrassom e raios laser.^{7,8} A revascularização é fator determinante para a regeneração da fibra muscular após lesão,⁹ pois ocasiona o acesso de nutrientes e oxigenação, pelos vasos nos tecidos adjacentes, fundamental para o reparo do tecido.¹⁰ Essa revascularização ocorre por meio da proliferação das células endoteliais, estimulada por fatores de crescimento como o fator de crescimento fibroblástico básico (bFGF) e fator de crescimento endotelial vascular.¹¹ A arginina é um aminoácido básico e precursor da síntese de uma molécula com grande importância biológica, o óxido nítrico, dentre outras.¹² Tradicionalmente é considerada um aminoácido não essencial para adultos e crianças devido à capacidade do organismo de sintetizá-la.¹³ Porém, em certas condições de estresse ocorre o aumento do seu consumo, que excede a capacidade de sua produção endógena e torna-se assim um aminoácido condicionalmente essencial.¹⁴ O óxido nítrico está envolvido em grande variedade de funções biológicas.¹⁵ Exerce função como regulador vasoativo, promove o relaxamento endotelial com consequente vasodilatação e assim eleva o fluxo sanguíneo aos tecidos lesados.¹⁶ Desempenha também importante papel na resposta imunológica por mediar mecanismos de citotoxicidade e defesa não específica do hospedeiro.¹⁷ Atualmente as lesões musculares compõem um grupo de agravos dos mais desafiadores da traumatologia esportiva, especialmente em atletas considerados de alto desempenho, pois apesar de comuns seu tratamento ainda

é controverso e muitas vezes ineficiente. Habitualmente, longos períodos de afastamento são necessários para que o atleta retorne plenamente a suas atividades e em alguns casos as sequelas podem fazer parte do resultado final.¹⁸ Diante do exposto, o presente estudo tem por objetivo avaliar a influência da suplementação oral com L-arginina na regeneração de lesão muscular por estiramento, induzida no músculo tibial anterior de ratos.

Material e método

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Experimental (Parecer 023/12), conforme protocolo da instituição onde foi feito. Foram usados 24 ratos da linhagem Wistar (*Rattus norvegicus, albinus*), adultos com peso médio de $492,5 \pm 50,45$ gramas, provenientes do biotério da Universidade Federal do Paraná (UFPR). Foram mantidos em ambiente específico com temperatura (20 ± 4 °C) e umidade ambientais automaticamente controladas, ciclos claro/escuro de 12 horas e receberam ração específica (Nuvilab®, Quimitalia S/A) e água *ad libitum*.

Delineamento do estudo

Os ratos foram submetidos à tração para estiramento passivo do músculo tibial anterior do membro posterior direito, por 45 minutos, foi mantido intacto o membro posterior esquerdo como controle. A seguir, foram separados em três grupos com oito ratos cada. O grupo não tratado (GNT) após 24 horas do período de tração e sob plano anestésico foi submetido aos procedimentos de punção cardíaca para coleta de sangue, em volume suficiente para a indução de parada cardiorrespiratória e avaliações bioquímicas. Após a comprovação da morte, foram ressecados os músculos anteriores direitos e esquerdos para avaliações histopatológicas. O grupo simulação (GS) foi tratado diariamente por via oral, por sete dias, com solução salina isotônica. O grupo com arginina (GA) foi tratado diariamente por via oral, por sete dias, com solução de arginina em doses de 3 g, diluída em solução salina isotônica. Ao sétimo dia do procedimento de indução das lesões por estiramento muscular, os ratos dos grupos GS e GA sob plano anestésico foram submetidos aos mesmos procedimentos do GNT.

A indução anestésica foi praticada nos ratos tanto para a indução da lesão muscular por estiramento como para a coleta de sangue. Para esse propósito os ratos eram previamente sedados por inalação com halotano (Tanohalo® - Cristália) em circuito fechado, pesados em balança eletrônica (Coleman®) e a seguir anestesiados com a associação de 100 mg/kg de Cetamina (Ketamin® - Cristália) e 10 mg/kg de Xilasina (Calmiun® - Agner União) por via intraperitoneal, o que garante anestesia por no mínimo quatro horas.

Indução de lesão muscular

Padronizou-se que a tração somente seria executada nos membros posteriores direitos. Usou-se um aparelho previamente descrito¹⁹ e especialmente elaborado para a finalidade de indução de lesão muscular por estiramento, demonstrado na [figura 1](#), no qual grupos de cinco ratos, sob indução

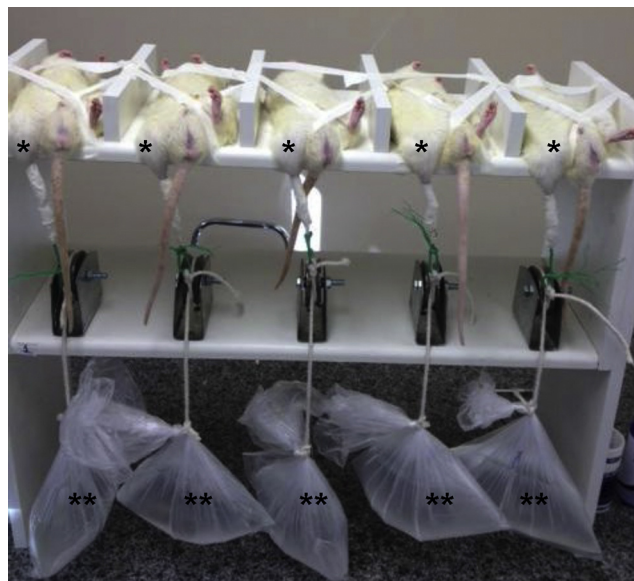


Figura 1 – Detalhes do sistema empregado para a indução de estiramento do músculo tibial anterior em ratos sob anestesia. Detalhe (*) os membros posteriores direitos sob tração, detalhe (**) roldanas que permitem a suspensão das bolsas plásticas com água.

anestésica, eram individualmente fixados com tiras adesivas, em decúbito dorsal, com o dorso da pata do membro posterior direito preso por fita adesiva a uma linha, a qual passava por roldana e sustentava um saco plástico pendente, com água num volume correspondente a 150% do peso do respectivo rato. Dessa forma era feita uma flexão plantar, por 45 minutos, que provocava uma lesão pelo estiramento do músculo tibial anterior. Após a indução de lesão muscular os ratos foram transferidos para ambiente específico. Os do GNT foram mantidos por 24 horas e os dos GS e GA por sete dias. Após os períodos de manutenção e suplementações nutricionais anteriormente descritos, procederam-se às coletas de sangue e ressecções dos músculos tibiais anteriores de ambos os membros posteriores para as avaliações bioquímicas séricas e histopatológicas.

Suplementação com arginina

Usou-se 420 g de L-arginina (Merck®) diluída em quantidade suficiente para 112 ml com solução salina isotônica, esterilizada por filtração em membranas MF (SCWP304FO Millipore®). Para sua administração, os ratos eram sedados por inalação com halotano (Tanohalo® - Cristália) em circuito fechado e então, por gavagem, era administrado 0,8 ml da solução que continha 3 g de L-arginina, uma vez ao dia, sempre no mesmo horário e durante sete dias.²⁰

Avaliações bioquímicas

Foram determinados os níveis sérios de creatina-quinase (CK-U/L), desidrogenase láctica (LDH-U/L), aspartato-aminotransferase (AST-U/L) por método automatizado

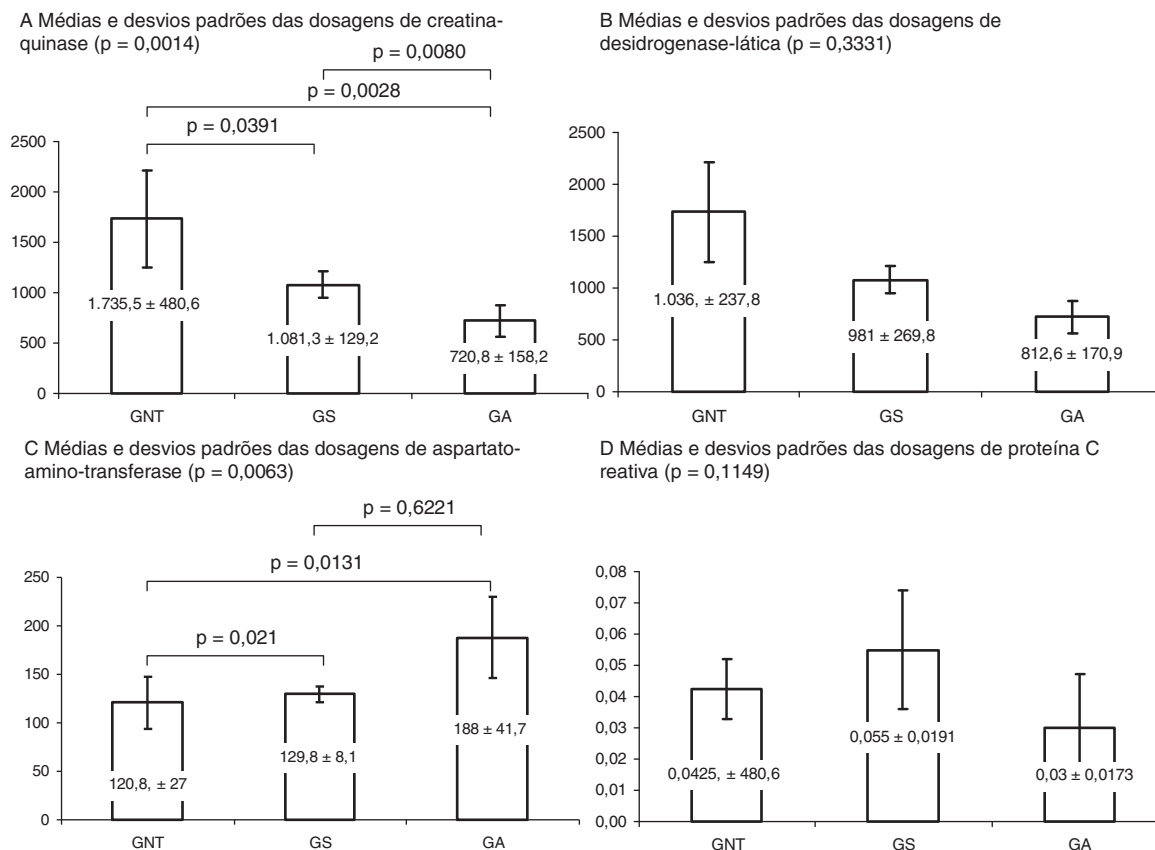


Figura 2 – Gráficos representativos das médias e dos desvios-padrão das dosagens bioquímicas entre os grupos GNT (não tratados e submetidos à tração muscular), GS (simulação) e GA (arginina).

enzimático fotométrico e proteína C reativa (PCR-mg/dl) por imunoensaio turbidimétrico ultrasensível.

Avaliações histológicas

O processamento histológico foi padronizado para todas as amostras de músculos tibiais anteriores e foi iniciado pela fixação dos músculos em formalina, seguida de cortes padronizados em planos transversais e longitudinais às fibras musculares e a seguir o processamento histológico automatizado seguido da coloração pela hematoxilina e eosina de Harris. As lâminas histológicas foram analisadas sob microscopia óptica e descritas histopatologicamente em 50, 100 e 400 aumentos, por dois patologistas independentes com ênfase aos achados compatíveis com lesão por estiramento como edema, hemorragia e desorganização ou alteração morfológica das fibras musculares. Para evidenciar a reparação tecidual procuravam-se padrões histológicos com proliferação de tecido adiposo, angiogênese e fibras musculares. As amostras dos músculos tibiais anteriores esquerdos que não foram submetidos à tração eram consideradas como controles.²¹

Avaliações estatísticas

Usaram-se os testes ANOVA e t de Student com valor de 0,05 para definir a significância estatística entre as variáveis avaliadas.

Resultados

Avaliações bioquímicas

Nas avaliações bioquímicas, houve diferença entre os grupos quando foram comparadas as médias das dosagens de creatina-quinase ($p=0,0014$) e de aspartato-amino-transferase ($p=0,0150$). Entre as médias das dosagens de desidrogenase láctica ($p=0,3331$) e proteína C reativa ($p=0,1149$) não houve diferença entre os grupos (fig. 2). Observa-se no detalhe A da figura 2 que as médias das dosagens de creatina-quinase no grupo GNT foram significativamente maiores do que nos grupos GS e GA e entre esses grupos no GA foram significativamente menores do que no GS. No detalhe C observa-se que houve diferença significativa entre os grupos GNT e GS, mas não entre os grupos GS e GA.

Avaliações histológicas

Não foram evidenciadas alterações histopatológicas em 100% das amostras dos membros posteriores esquerdos. Nas avaliações dos músculos dos membros direitos, submetidos à tração e conforme descrito na figura 3, no GNT foram evidenciados ruptura de fibras musculares, edema e hemorragia entre as fibras musculares, alterações morfológicas, como fibras musculares tortuosas, hipereosinofilia com perda de

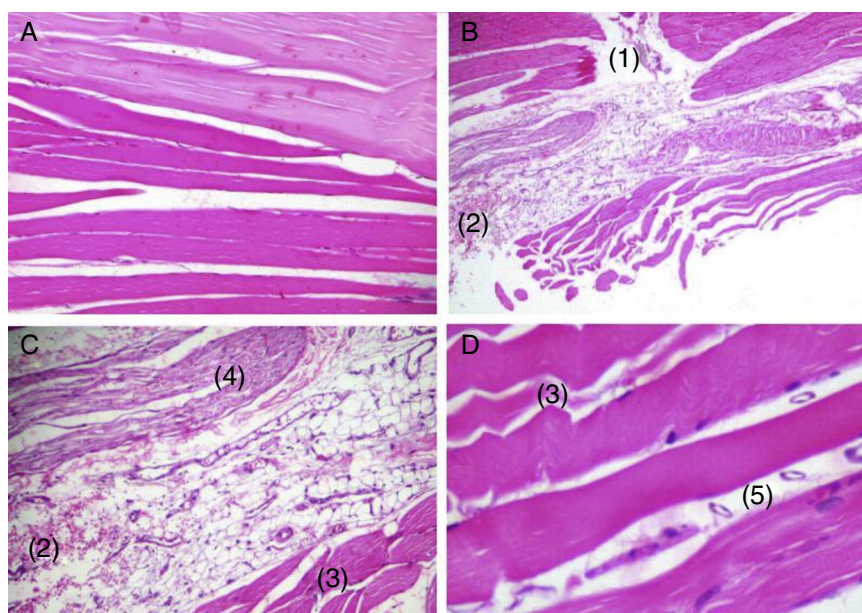


Figura 3 – Fotomicrografias de cortes histológicos de tecidos musculares estriados esqueléticos de amostras de músculo tibial anterior de ratos, corado pela hematoxilina e eosina de Harris. No detalhe [A], corte longitudinal ($\times 40$) de músculo controle não tracionado, sem alterações. No detalhe [B], corte longitudinal ($\times 40$) de músculo tracionado de rato não tratado (GNT), que evidencia ruptura de fibras musculares (1), edema e extravasamento de hemácias (hemorragia) entre as fibras musculares (2). No detalhe [C], corte longitudinal ($\times 40$) de músculo tracionado de rato não tratado (GNT), que evidencia edema e extravasamento de hemácias (hemorragia) entre as fibras musculares (2), fibras musculares tortuosas (3), hipereosinofílicas com perda de estriações, que caracteriza degeneração hialina (4). No detalhe [D], corte longitudinal ($\times 100$) de músculo tracionado de rato tratado com arginina (GA), com a evidência de intensa angiogênese (5) entre as fibras musculares, edema e fibras tortuosas.

estriações, o que caracterizou degeneração hialina. Nas amostras de músculos tracionados de ratos tratados com arginina (GA) foi evidenciada intensa angiogênese entre as fibras musculares, edema e fibras tortuosas.

Discussão

Os estudos experimentais contribuem para a elucidação dos principais aspectos do processo regenerativo muscular devido ao alto grau de similaridade morfológica dos tecidos musculares esqueléticos entre mamíferos e possibilitam uma avaliação qualitativa dos sinais de lesão e regeneração muscular.²² No presente estudo, as amostras de músculos tibiais anteriores dos ratos do GNT foram avaliadas precocemente, nas 24 horas da indução da lesão, para estabelecer o padrão histológico compatível com lesão muscular por estiramento, evidenciada pela ocorrência de edema e hemorragia em todas as amostras, o que confirma a efetividade do método escolhido para a indução. Diferentes métodos experimentais de indução de lesão muscular têm sido usados, por meio de contusão,²³ eletroestimulação,²⁴ exercícios físicos,²⁵ injeções de miotoxinas²⁴ e desnervação²⁶ e no presente estudo optou-se por um modelo de estiramento o qual induz alterações histopatológicas similares às observadas em humanos.¹⁹ As doses de anestésicos usados na indução das lesões foram calculadas para manter os animais sob indução anestésica

por quatro horas e evitar o uso de drogas anti-inflamatórias ou sedativas que pudessem interferir no processo de reparo muscular. Nos resultados histológicos deste estudo, no GNT foram confirmados os achados histológicos compatíveis com lesão por estiramento, conforme descrito nos detalhes B e C da figura 3, na qual são evidenciados edema e hemorragia entre as fibras musculares. A vasodilatação promovida pelo óxido nítrico, após a metabolização da L-arginina, resulta no aumento da perfusão muscular e diminuição do consumo de glicose pelos músculos esqueléticos, o que ocasiona a diminuição da fadiga muscular e induz a melhoria do desempenho físico.²⁷ A dose de 3 g e a via oral de administração da arginina foram indicadas em estudo em humanos que demonstrou melhoria da resistência à fadiga mediante grandes esforços²¹ e o aumento de força e de massa muscular em indivíduos sob um programa de treinamento com pesos.²⁸ No presente estudo não houve intercorrências com o tratamento de arginina por via oral e de acordo com a figura 2 pôde-se observar diminuição significativa nos níveis séricos de creatina-quinase nos ratos tratados. Essa enzima tem sido usada como indicador do estresse imposto à musculatura esquelética, decorrente da atividade física intensa e também como um fator de monitoramento da carga de treinamento.²⁹ No grupo GNT, a média de creatina-quinase foi de $1.375 \pm 480,6$ U/L, significativamente maior do que as médias dos grupos GS e GA. Esse grupo, além da função de demonstrar a efetividade do modelo empregado,¹⁹ também evidenciou reflexos

no aumento da creatina-quinase circulante. Deve ser considerado que as dosagens da referida enzima nesse grupo foram executadas 24 horas após a interrupção do estiramento muscular e as dosagens nos grupos GS e GA sete dias após. Foi verificada entre esses grupos diferença significativa ($p=0,0080$), o que evidencia efeito da L-arginina na possível reparação do estresse imposto ao músculo tibial anterior pela tração provocada. Assim sendo, a arginina pode ser um potencial tratamento para essas lesões, pois se observou, nas avaliações histológicas dos ratos tratados diariamente, por sete dias, com 3g de arginina por via oral, a intensa angiogênese, efeito já conhecido em treinamentos musculares com pesos, que proporcionam maior resistência e ganho de massa, além de contribuir para a diminuição do percentual de gordura corporal.²⁸ Na avaliação da aspartato-aminotransferase observou-se elevação significativa dos níveis séricos nos ratos do grupo GA (fig. 2). O aumento da concentração de proteínas citosólicas na circulação após o exercício reflete a lesão muscular. As proteínas avaliadas nessas situações frequentemente são creatina-quinase (CK), lactato desidrogenase (LDH), aspartato aminotransferase e mioglobina, que, normalmente, são incapazes de atravessar a membrana plasmática.³⁰ Os processos metabólicos relacionados com a atividade física são melhorados com o uso da arginina, por proporcionar melhoria na perfusão sanguínea muscular e assim induzir maior liberação de nutrientes, uma vez que os músculos tornam-se capazes de produzir energia por tempo mais prolongado, e de oxigênio, o que retarda a anaerobiose do processo. Também favorece a eliminação de substâncias tóxicas acumuladas durante a prática de atividade física e torna mais fácil a recuperação muscular.²⁸

Conclusão

O uso de arginina por via oral não causou alterações metabólicas importantes que contraindiquem seu uso e induziu angiogênese durante a reparação de lesões musculares por estiramento.

Conflitos de interesse

Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

REFERÊNCIAS

1. Araújo DSMS, Araújo CGS. Aptidão física, saúde e qualidade de vida relacionada à saúde em adultos. *Rev Bras Med Esporte*. 2000;6(5):194-203.
2. Thompson D, Williams C, Kingsley M, Nicholas CW, Lakomy HK, McArdle F, et al. Muscle soreness and damage parameters after prolonged intermittent shuttle-running following acute vitamin C supplementation D. *Int J Sports Med*. 2001;22(1):68-75.
3. Thompson D, Nicholas CW, Williams C. Muscular soreness following prolonged intermittent high-intensity shuttle running. *J Sports Sci*. 1999;17(5):387-95.
4. Carazzato JG. Lesões musculoesqueléticas e seu tratamento. *Rev Bras Ortop*. 1994;29(10):723-8.
5. Booth FW. Time course of muscular atrophy during immobilization of hind limbs in rats. *J Appl Physiol*. 1977;43(4):656-61.
6. Tucker KR, Seider MJ, Booth FW. Protein synthesis rates in atrophied gastrocnemius muscles after limb immobilization. *J Appl Physiol*. 1981;51(1):73-7.
7. Järvinen TA, Kääriäinen M, Järvinen M, Kalimo H. Muscle strain injuries. *Curr Opin Rheumatol*. 2000;12(2):155-61.
8. Sene GL, Shimano AC, Picado CHF. Recuperação mecânica muscular com laser. *Acta Ortop Bras*. 2008;17(2):46-9.
9. Lefaucheur JP, Sébille A. The cellular events of injured muscle regeneration depend on the nature of the injury. *Neuromuscul Disord*. 1995;5(6):501-9.
10. Kauhanen S, Salmi A, von Boguslawski K, Asko-Seljavaara S, Leivo I. Satellite cell proliferation, reinnervation, and revascularization in human free microvascular muscle flaps. *J Surg Res*. 2003;115(2):191-9.
11. Menetrey J, Kasemkijwattana C, Day CS, Bosch P, Vogt M, Fu FH, et al. Growth factors improve muscle healing in vivo. *J Bone Joint Surg Br*. 2000;82(1):131-7.
12. Chiarla C, Giovannini I, Siegel JH. Plasma arginine and correlations in trauma and sepsis. *Amino Acids*. 2006;30(1):81-6.
13. Hardy I, Alany R, Russell B, Hardy G. Antimicrobial effects of arginine and nitrogen oxides and their potential role in sepsis. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2006;9(3):225-32.
14. Pan M, Choudry HA, Epler MJ, Meng Q, Karinch A, Lin C, Souba W. Arginine transport in catabolic disease states. *J Nutr*. 2004;134 Suppl 10:2826-9.
15. Luiking YC, Poeze M, Ramsay G, Deutz NE. Reduced citrulline production in sepsis is related to diminished de novo arginine and nitric oxide production. *Am J Clin Nutr*. 2009;89(1):142-52.
16. Samel S, Keese M, Lanig S, Kleczka M, Gretz N, Hafner M, et al. Supplementation and inhibition of nitric oxide synthesis influences bacterial transit time during bacterial translocation in rats. *Shock*. 2003;19(4):378-82.
17. Bogdan C. Nitric oxide and the immune response. *Nat Immunol*. 2001;2(10):907-16.
18. Vieira DFF, Guarniero R, Vaz CES, Santana PJ. Efeito da utilização de um centrifugado de medula óssea no tratamento de lesão muscular: estudo experimental em coelhos. *Rev Bras Ortop*. 2011;46(6):718-25.
19. Nikolaou PK, MacDonald BL, Glisson RR, Seaber AV, Garret WE Jr. Biomechanical and histological evaluation of muscle after controlled strain injury. *Am J Sports Med*. 1987;15(1):9-14.
20. Santos R, Pacheco MTT, Martins RAB, Villaverde AB, Giana HE, Baptista F. Study of the effect of oral administration of L-arginine on muscular performance in health volunteers. An isokinetic study *Isokinetic Exerc Sci*. 2002;10(3):153-8.
21. Carlson BM, Faulkner JA. The regeneration of skeletal muscle fibers following injury: a review. *Med Sci Sports Exerc*. 1983;15(3):187-98.
22. Tidball JG. Inflammatory cell response to acute muscle injury. *Med Sci Sports Exerc*. 1995;27(7):1022-32.
23. Minamoto VB, Bunho SR, Salvini TF. Regenerated rat skeletal muscle after periodic contusions. *Braz J Med Biol Res*. 2001;34(11):1447-52.
24. Hill M, Wernig A, Goldspink G. Muscle satellite (stem) cell activation during local tissue injury and repair. *J Anat*. 2003;203(1):89-99.
25. Serrão FV, Foerster B, Spada S, Morales MM, Monteiro-Pedro V, Tannús A, et al. Functional changes of human quadriceps muscle injured by eccentric exercise. *Braz J Med Biol Res*. 2003;36(6):781-6.
26. Jakubiec-Puka A, Ciechomska I, Morga J, Matusiak A. Contents of myosin heavy chains in denervated slow and fast rat leg muscles. *Comp Biochem Physiol*. 1999;122(3):355-62.

-
27. McConell GK, Huynh NN, Lee-Young RS, Canny BJ, Wadley GD. L-arginine infusion increases glucose clearance during prolonged exercise in humans. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2006;290(1):60-6.
 28. Gerseli A, Barros TL, Barros DFL, Lima M. Investigação dos efeitos da suplementação oral de arginina no aumento de força e massa muscular. *Rev Bras Med Esporte.* 2007;13(2):129-32.
 29. Coelho DB, Morandi RF, Melo MAA, Silami-Garcia E. Cinética da creatina quinase em jogadores de futebol profissional em uma temporada competitiva. *Rev Bras Cineantropom Desempenho Hum.* 2011;13(3):189-94.
 30. Stupka N, Lowther S, Chorneyko K, Bourgeois JM, Hogben C, Tarnopolsky MA. Gender differences in muscle inflammation after eccentric exercise. *J Appl Physiol.* 2000;89(6):2325-32.