



# Máxima fase estável de lactato é ergômetro-dependente em modelo experimental utilizando ratos

Fúlvia de Barros Manchado<sup>1,2</sup>, Claudio Alexandre Gobatto<sup>1</sup>, Ricardo Vinícius Ledesma Contarteze<sup>1</sup>, Marcelo Papoti<sup>1,3</sup> e Maria Alice Rostom de Mello<sup>1</sup>

## RESUMO

A máxima fase estável de lactato (MFEL) é considerada padrão-ouro para a determinação da intensidade de transição metabólica aeróbia-anaeróbia em exercício contínuo, porém a resposta lactacidêmica nessa intensidade é, em humanos, dependente do ergômetro utilizado na avaliação. Uma ferramenta importante para estudos em fisiologia e áreas correlatas é a aplicação de modelos experimentais utilizando animais. Entretanto, ainda são restritas as pesquisas destinadas a investigar protocolos de avaliação em ratos. O objetivo do estudo foi verificar se a MFEL é dependente do ergômetro utilizado para a avaliação aeróbia de ratos. Para isso, 40 ratos Wistar adultos foram avaliados em dois diferentes exercícios: natação e corrida em esteira. Em ambos, a MFEL foi verificada após aplicação de quatro testes contínuos, em diferentes intensidades, com duração de 25 minutos, separados por intervalo de 48 horas. Em todos os testes houve coleta sanguínea da cauda dos animais a cada cinco minutos de exercício para análise do lactato sanguíneo. Os testes de natação ocorreram em tanque cilíndrico profundo, com a temperatura da água a  $31 \pm 1^\circ\text{C}$ . As cargas adotadas para os testes foram de 4,5; 5,0; 5,5; 6,0% do peso corporal, atadas ao dorso dos animais. Para a determinação da MFEL em corrida, houve seleção dos ratos corredores e as velocidades dos testes foram de 15, 20, 25, 30 m.min<sup>-1</sup>. A MFEL foi interpretada como a mais alta intensidade de exercício na qual o aumento da lactacidemia foi igual ou inferior a 1 mM, do 10<sup>o</sup> ao 25<sup>o</sup> minuto. Anova *one-way* identificou diferenças entre as concentrações de lactato sanguíneo nos diversos tempos de exercício e ergômetros. A MFEL na natação ocorreu a 5,0% do peso corporal (pc), em concentração de lactato de  $5,20 \pm 0,22\text{mM}$ . Para o exercício em esteira rolante, observou-se MFEL a 20 m.min<sup>-1</sup>, em concentração  $3,87 \pm 0,33\text{mM}$ . Dessa forma, é possível concluir que a MFEL também é ergômetro-dependente em modelos experimentais utilizando animais.

## ABSTRACT

### **The maximal lactate steady state is ergometer-dependent in experimental model using rats**

The maximal lactate steady state (MLSS) is considered the gold standard method for determination of aerobic/anaerobic metabolic transition during continuous exercise, but the blood lactate response at this intensity is ergometer-dependent in human beings. An important tool for exercise physiology and correlated fields is the use of animal models. However, investigation on evaluation protocols in rats is scarce. The aim of the present study was to

1. Universidade Estadual Paulista – UNESP. Departamento de Educação Física, Rio Claro/SP, Brasil.

2. Faculdades Integradas Einstein de Limeira – FIEL, Limeira/SP, Brasil.

3. Faculdades Integradas de Bauru – FIB, Bauru/SP, Brasil.

Recebido em 15/9/05. Versão final recebida em 19/12/05. Aceito em 14/5/06.

**Endereço para correspondência:** Fúlvia de Barros Manchado, Av. 24<sup>a</sup>, 1.515, Bela Vista – 13506-900 – Rio Claro, SP – Brasil. Tel.: (19) 3527-0691, fax: (19) 3536-4974. E-mail: fbmanchado@yahoo.com.br

**Palavras-chave:** Lactato sanguíneo. Natação. Corrida. Ratos Wistar.

**Keywords:** Blood lactate. Swimming. Treadmill running. Wistar rats.

**Palabras-clave:** Lactato sanguíneo. Natación. Carreras. Ratonos Wistar.

verify if the MLSS is ergometer-dependent for the evaluation of the aerobic conditioning of rats. Therefore, 40 adult male Wistar rats were evaluated in two different exercise types: swimming and treadmill running. In both, the MLSS was obtained with 4 continuous 25 minutes tests, at different intensities, performed at 48 hours intervals. In all tests, blood samples were collected from a cut at the tail tip every 5 minutes for blood lactate analysis. The swimming tests occurred in a deep cylindrical tank, with water temperature at  $31 \pm 1^\circ\text{C}$ . The loads used in the tests were 4.5; 5.0; 5.5 and 6.0% of the body weight tied to the animal's back. For MLSS determination in running exercise, there was selection of running rats and velocities used in the tests were 15, 20, 25, 30 m.min<sup>-1</sup>. The MLSS was interpreted as an increase not exceeding 1.0 mM of blood lactate, from the 10<sup>th</sup> to the 25<sup>th</sup> minute of exercise. The MLSS in swimming exercise occurred at 5.0% of body weight (bw), with blood lactate at  $5.20 \pm 0.22\text{mM}$ . The running rats presented MLSS at the 20 m.min<sup>-1</sup> velocity, with blood lactate of  $3.87 \pm 0.33\text{mM}$ . The results indicated that the MLSS is ergometer-dependent in experimental models using animals, as it is in human beings.

## RESUMEN

### **Máxima fase de estabilidad de lactato es ergómetro-dependiente en modelo experimental utilizando ratones**

La máxima fase de estabilidad de lactato (MFEL) es considerada oro padrón para la determinación de la intensidad de transición metabólica aerobia-anaerobia en ejercicio continuo, sin embargo la respuesta lactacidémica en esa intensidad es, en humanos, dependiente del ergómetro utilizado en la evaluación. Una herramienta importante para estudios en fisiología y áreas correlacionadas es la aplicación de modelos experimentales utilizando animales. Entretanto, todavía son restrictas las investigaciones destinadas a investigar protocolos de evaluación en ratones. El objetivo del presente estudio ha sido el de verificar si MFEL es dependiente del ergómetro utilizado para la evaluación aerobia de ratones. Para eso, 40 ratones Wistar adultos fueron evaluados en dos diferentes ejercicios: natación y carrera en faja ergo métrica. En ambos, la MFEL fue verificada después de la aplicación de 4 tests continuos, en diferentes intensidades, con duración de 25 minutos, separados por intervalos de 48 horas. En todos los tests hubo colecta sanguínea de la cola de los animales a cada 5 minutos de ejercicio para analizar el lactato sanguíneo. Los tests de natación ocurrieron en un tanque cilíndrico profundo, con el agua a temperatura de  $31 \pm 1^\circ\text{C}$ . Las cargas adoptadas para los tests fueron 4,5; 5,0; 5,5; 6,0% del peso corporal, atadas al dorso de los animales. Para la determinación de la MFEL en carreras, hubo una selección de los ratones corredores y las velocidades de los tests fueron de 15, 20, 25, 30 m.min<sup>-1</sup>. La MFEL fue interpretada como

la más alta intensidad de ejercicio en la que el aumento de lactacidemia fue igual o inferior a 1mM, del 10° al 25° minuto. Anova one-way identificó diferencias entre las concentraciones de lactato sanguíneo en los diversos tiempos de ejercicio y ergómetros. La MFEL en la natación ocurrió a 5,0% pc, en concentración de lactato de  $5,20 \pm 0,22$  mM. Para el ejercicio en faja ergo métrica, se observó MFEL a  $20 \text{ m}\cdot\text{min}^{-1}$ , en concentración de  $3,87 \pm 0,33$  mM. De esa forma, es posible concluir que la MFEL también es ergómetro-dependiente en modelos experimentales utilizando animales.

## INTRODUÇÃO

A determinação da predominância metabólica para o fornecimento de energia durante um exercício apresenta extrema importância para a correta prescrição da atividade. Nesse sentido, muitos são os protocolos de avaliação propostos para detectar a intensidade de transição entre os metabolismos aeróbio e anaeróbio<sup>(1-6)</sup>.

Ao longo dos anos, a fisiologia do exercício e áreas correlatas vêm desenvolvendo metodologias simples e complexas, buscando a determinação da intensidade de esforço. Segundo Gaesser e Poole<sup>(7)</sup>, as respostas fisiológicas frente ao exercício sinalizam, de forma fidedigna, a característica do metabolismo predominante do fornecimento de energia para dada atividade. Dentre essas respostas é possível destacar a lactacidemia sanguínea.

A máxima fase estável de lactato (MFEL), definida como a mais alta intensidade na qual o metabolismo anaeróbio ainda prepondera sobre o anaeróbio, é considerada, na atualidade, o método padrão-ouro para a determinação da intensidade de transição entre esses metabolismos em exercício contínuo executado por humanos<sup>(8-10)</sup>. Segundo Beneke<sup>(8)</sup>, a resposta lactacidêmica nessa intensidade é dependente do ergômetro utilizado por esses indivíduos, o que implica cuidados na generalização de informações equivocadas a cargas de treinamento prescritas pela concentração de lactato sanguíneo.

A importância em determinar com precisão a intensidade de exercício não está resumida apenas a trabalhos nos quais seres humanos são objetos de estudo. Uma ferramenta que se tem mostrado interessante para a observação do organismo frente ao esforço é a utilização de modelos experimentais com animais, elaborados para simular situações, fisiopatológicas ou relacionadas ao treinamento, ocorridas com humanos, e solucionar os eventuais problemas decorrentes das alterações observadas<sup>(11-13)</sup>.

Com esse propósito, Gobatto *et al.*<sup>(14)</sup> avaliaram a MFEL em ratos sedentários adaptados ao meio líquido, submetidos ao exercício de natação, como proposto por Heck *et al.*<sup>(15)</sup> para avaliação de humanos. Para isso, os animais realizaram 20 minutos de esforços contínuos com cargas em intensidades correspondentes a 5, 6, 7, 8, 9 e 10% de seu peso corporal, atadas ao dorso, com coletas sanguíneas sendo realizadas a cada cinco minutos para posterior determinação da lactacidemia. Os autores observaram MFEL em intensidade correspondente a 6% do peso corporal, com a concentração de estabilização de 5,5mM. Esse valor é diferente e superior ao reportado para humanos em distintos exercícios e para ratos realizando esforço em esteira rolante (aproximadamente 4mM). Em revisão recente sobre a máxima fase estável de lactato, Billat *et al.*<sup>(10)</sup> apontam como representativos para estudos com animais os achados de Gobatto *et al.*<sup>(14)</sup>.

Outros protocolos de avaliação de ratos vêm sendo desenvolvidos em natação, tais como a determinação da carga crítica e capacidade de trabalho anaeróbio<sup>(16)</sup> e teste de lactato mínimo<sup>(17)</sup>. Entretanto, devido à grande importância, todos utilizam a MFEL como padrão-ouro para a validação de seus procedimentos.

A esteira rolante é um outro ergômetro bastante utilizado para o treinamento de ratos e, sendo assim, também é de extrema importância a detecção da intensidade de esforço em exercício

de corrida. Em 1993, Pillis *et al.*<sup>(18)</sup> propuseram a aplicação de teste incremental e observação da resposta lactacidêmica para avaliação aeróbia de ratos corredores, baseando-se nos conceitos de limiar anaeróbio (Lan) sugerido para humanos<sup>(4)</sup>. Desse modo, os animais realizaram um teste caracterizado pelo aumento progressivo da velocidade, com estágios de cinco minutos e coletas de sangue ao final de cada carga, com posterior determinação do limiar anaeróbio por análise do comportamento exponencial da curva lactacidêmica. O limiar anaeróbio dos ratos foi obtido a  $25 \text{ m}\cdot\text{min}^{-1}$ , em concentração de lactato de 4mM. Os resultados desse estudo revelaram comportamento do lactato sanguíneo similar ao descrito para humanos, inclusive com igual concentração associada ao Lan. Apesar disso, na natação de ratos, Gobatto *et al.*<sup>(19)</sup> não encontraram esse clássico comportamento exponencial da curva de lactato sanguíneo, o que sugere a necessidade de maiores investigações acerca da cinética de lactato em animais submetidos a exercício físico e a distinção de respostas do lactato em diferentes ergômetros.

Devido à importância do método denominado máxima fase estável de lactato e para prevenção de equívocos na prescrição de atividade para animais em diferentes tipos de exercício, o objetivo do presente estudo foi avaliar se a máxima fase estável de lactato, assim como em humanos, também é dependente do ergômetro utilizado para a avaliação aeróbia de ratos.

## MÉTODOS

### Animais

Todos os experimentos foram conduzidos de acordo com a política do Colégio Americano de Medicina do Esporte e aprovados pelo Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista – UNESP Rio Claro. Quarenta ratos da linhagem Wistar, com 90 dias de idade, pesando  $443 \pm 33$ g, foram utilizados. Durante o período experimental, os animais foram mantidos em gaiolas coletivas (cinco ratos por gaiola) em uma sala iluminada com ciclo claro-escuro de 12:00-12:00h e temperatura de 25°C. Os ratos receberam ração comercial própria para roedores (*Labina-Purina*) e água *ad libitum*.

### Protocolo experimental

#### Adaptação ao meio líquido

Vinte animais foram submetidos a testes de máxima fase estável em exercício de natação. Anteriormente à realização dos testes, os ratos foram adaptados ao meio líquido de forma padronizada. A adaptação ocorreu no período total de 15 dias ininterruptos, em um tanque cilíndrico com superfície lisa, medindo 60cm de diâmetro por 120cm de profundidade<sup>(16)</sup>, com a temperatura da água mantida a  $31 \pm 1$ °C<sup>(20)</sup>. O propósito da adaptação foi reduzir o estresse do animal sem, entretanto, promover adaptações fisiológicas decorrentes do treinamento físico.

Inicialmente, os ratos foram inseridos em água rasa por três dias durante 15 minutos. Posteriormente, o nível da água foi aumentado, bem como o tempo de duração do esforço e a carga a ser sustentada pelo animal. Assim, no quarto dia, os ratos nadaram em água profunda por dois minutos, com acréscimo de dois minutos a cada dia até o décimo dia de adaptação. No 11º dia, os animais foram submetidos ao exercício de natação por cinco minutos suportando uma carga de 3% de seu peso corporal, com acréscimos de cinco minutos a cada dia, quando, no 15º dia, encerrou-se a adaptação.

#### Seleção dos ratos corredores e adaptação à esteira rolante

Para a realização dos testes em esteira houve a necessidade de seleção prévia dos animais corredores. A seleção ocorreu em um período de sete dias, nos quais foram escolhidos os 20 ratos que apresentaram resposta positiva ao estímulo de corrida ao menos cinco vezes. Após a seleção, os animais foram submetidos a uma

adaptação ao exercício em esteira rolante, com velocidades (5 a 20m.min<sup>-1</sup>) e durações (5 a 15 min) progressivas. O objetivo da adaptação também foi a redução dos níveis de estresse apresentados pelo animal devido à tarefa ser conhecida sem promoção do treinamento físico.

#### Determinação da máxima fase estável de lactato

Todo o protocolo experimental foi realizado em condições ambientais idênticas às ocorridas durante o período de adaptação, tanto na natação quanto na esteira rolante.

Em ambos os exercícios, o protocolo para a determinação da MFEL foi composto por cinco testes contínuos com duração de 25 minutos, em diferentes intensidades de esforço, distribuídas aleatoriamente e separadas por um intervalo de 48 horas de descanso. Em todos os testes houve coleta de sangue da cauda dos animais nos tempos repouso, 5, 10, 15, 20 e 25 minutos de exercício, para posterior análise do lactato sanguíneo e obtenção das curvas lactacidêmicas em cada intensidade.

#### Testes na natação

Os ratos realizaram 25 minutos de esforços contínuos em cargas equivalentes a 4,5; 5,0; 5,5 e 6,0% do peso corporal, atadas ao dorso. O ajuste das cargas ocorreu diariamente, com mensuração da massa corporal dos animais. Para cada intensidade foram efetuadas extrações de sangue da cauda dos animais nos tempos já descritos e o tratamento da amostra sanguínea ocorreu conforme técnica posteriormente detalhada.

#### Testes de corrida em esteira rolante

Para a avaliação da MFEL em corrida, os animais selecionados executaram os testes contínuos nas velocidades de 15, 20, 25 e 30m.min<sup>-1</sup>. A esteira rolante específica para o treinamento de ratos, composta por oito baias, foi mantida com o dispositivo de choque elétrico desligado, reduzindo o efeito do estresse na realização do esforço pelo animal. Do mesmo modo que na natação, amostras sanguíneas foram retiradas da cauda dos ratos.

#### Amostras sanguíneas e análise

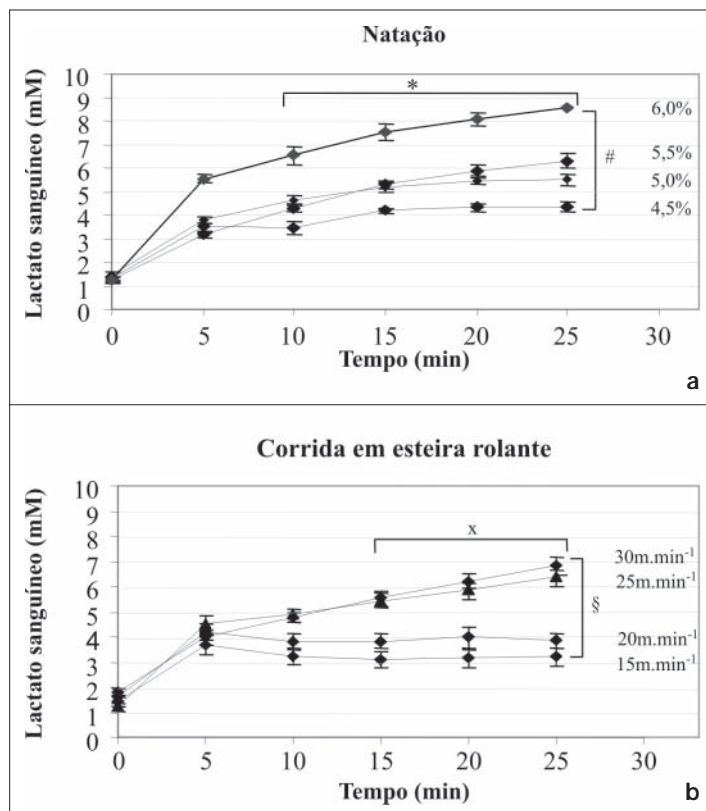
Durante os testes contínuos, amostras sanguíneas (25µl) foram extraídas da cauda do animal nos tempos já descritos e depositadas em tubos Eppendorf (capacidade de 1,5ml), contendo 50µl de fluoreto de sódio (1%). Para evitar a diluição do sangue na água no caso dos nadadores, os animais foram retirados do cilindro e secos, retornando ao meio líquido imediatamente após a coleta sanguínea. As concentrações de lactato sanguíneo foram determinadas em um analisador de lactato (modelo YSI 1500 Sport, Yellow Springs, OH, EUA).

#### Análise estatística

Em ambos os ergômetros, a MFEL foi interpretada como a mais alta intensidade de exercício na qual o aumento da lactacidemia foi igual ou inferior a 1mM, do 10º ao 25º minuto. As concentrações médias de lactato sanguíneo em cada intensidade para os dois ergômetros foram obtidas através da média dos valores lactacidêmicos dos tempos 10, 15, 20 e 25 minutos de exercício. Uma Anova one-way foi utilizada para identificar as diferenças entre as concentrações de lactato sanguíneo nas diversas durações do exercício contínuo e entre ergômetros distintos: natação e esteira rolante. Os resultados estão expressos em média ± erro padrão da média. Em todos os procedimentos estatísticos, o nível de significância foi prefixado em  $P < 0,05^{(21)}$ .

## RESULTADOS

Na figura 1 estão expressas as curvas de lactato sanguíneo dos ratos submetidos ao exercício de natação. A MFEL foi observada na intensidade equivalente a 5% do peso corporal, em concentração média de lactato 5,20 ± 0,22mM.



**Figura 1** – Máxima fase estável de lactato sanguíneo obtida em exercício de natação para ratos (a) (n = 20) e corrida em esteira rolante (n = 20) (b). Os resultados estão expressos em média ± erro padrão da média. A lactacidemia durante o exercício foi superior à inicial em todos os casos. \* diferença significativa entre a lactacidemia aos cinco minutos e os demais valores de lactato sanguíneo em todas as intensidades de exercício. # diferença significativa entre os valores de lactato sanguíneo na intensidade de 6% das demais intensidades, do 10º ao 25º minuto de exercício. § diferença significativa entre a lactacidemia do 15º ao 25º minuto e os valores de lactato aos cinco minutos, nas velocidades equivalentes a 25 e 30m.min<sup>-1</sup> x diferença significativa entre as curvas lactacidêmicas nas velocidades de 25 e 30m.min<sup>-1</sup> comparadas com as curvas de lactato obtidas a 15 e 20m.min<sup>-1</sup>, do 15º ao 25º minuto de exercício.

No exercício de corrida, a velocidade correspondente à máxima fase estável de lactato foi de 20m.min<sup>-1</sup>, porém, em concentração de lactato de 3,87 ± 0,33mM (figura 1). Na intensidade equivalente a 30m.min<sup>-1</sup>, apenas 20% dos animais completaram o teste.

A Anova one-way identificou diferença significativa entre a máxima fase estável de lactato obtida em exercício natação e esteira rolante.

## DISCUSSÃO

Apesar de a produção de lactato ocorrer internamente no músculo esquelético, as mensurações sanguíneas desse metabólito durante o exercício fornecem informações precisas acerca do fornecimento energético para execução do esforço, implicando a utilização desse parâmetro como uma ferramenta na prescrição<sup>(22)</sup> e acompanhamento do treinamento esportivo<sup>(23)</sup>.

A máxima fase estável de lactato está relacionada ao equilíbrio bioquímico de aparecimento e remoção do lactato sanguíneo<sup>(24)</sup> e é considerada a mais alta intensidade de exercício na qual esse estado estável ainda ocorre, delimitando assim uma transição de predominância metabólica aeróbia-anaeróbia<sup>(8,10)</sup>. Dessa forma, é considerado um método seguro para identificação da capacidade aeróbia<sup>(25)</sup>, o que corrobora para que muitos estudos utilizem esse procedimento na avaliação de indivíduos ativos e atletas de alto rendimento<sup>(9,26,27)</sup>.

A importância de nosso estudo encontra-se na aplicação desse protocolo individual para avaliação de animais laboratoriais em dois diferentes tipos de exercício: natação e esteira rolante. Além disso, há grande significado científico obter informações acerca de prováveis diferenças da resposta lactacidêmica em dois ergômetros muito utilizados para treinamento de ratos Wistar.

Em natação, nossos resultados de MFEL assemelham-se aos apontados por Gobatto *et al.*<sup>(14)</sup> e Voltarelli *et al.*<sup>(17)</sup>. A estabilização do lactato sanguíneo para nossos ratos sedentários foi obtida em 5% do peso corporal, assim como descrito por Voltarelli *et al.*<sup>(17)</sup>. Gobatto *et al.*<sup>(14)</sup> relataram carga de estabilização igual a 6%pc. Essa pequena distinção na carga relativa à MFEL pode estar relacionada com a especificidade da piscina utilizada. No presente trabalho, optamos por realizar o exercício de natação em tanque profundo (60cm de diâmetro por 120cm de profundidade) e com superfície lisa, evitando assim que os animais se apoiassem nas laterais da piscina durante a execução do teste ou atingissem o fundo do tanque executando movimento de salto. No estudo de Gobatto *et al.*<sup>(14)</sup>, as piscinas utilizadas não eram profundas (100cm de diâmetro por 80cm de profundidade), o que possivelmente favoreceu a atividade dos ratos.

A concentração de estabilização do lactato na máxima intensidade aeróbia em natação foi de  $5,20 \pm 0,22$ mM, valor muito próximo ao descrito por Gobatto *et al.*<sup>(14)</sup> para ratos sedentários (5,5mM), o que sugere reprodutibilidade dessa concentração para a espécie de animais avaliados. Mesmo após treinamento aeróbio, Gobatto *et al.*<sup>(14)</sup> não observaram alteração na concentração de estabilização de lactato. Em seres humanos, a estabilização do lactato em máxima intensidade aeróbia encontra-se, em média, entre 3 e 7mM<sup>(27,28)</sup>; porém, em exercício de natação, esse valor parece estar próximo do limite inferior da faixa descrita. Pereira *et al.*<sup>(29)</sup> determinaram o limiar anaeróbio de atletas nadadores em teste progressivo e observaram inflexão da curva lactacidêmica em concentração de 3,5mM. Dessa forma, parece que ratos Wistar apresentam valores superiores de concentração de lactato na MFEL em exercício de natação, quando comparados com humanos.

Na corrida em esteira rolante obtivemos MFEL em intensidade de 20m.min<sup>-1</sup>, em concentração de  $3,87 \pm 0,33$ mM. Pillis *et al.*<sup>(19)</sup> e Langfort *et al.*<sup>(30)</sup> sugerem a ocorrência do limiar anaeróbio em ratos corredores na velocidade 25m.min<sup>-1</sup>, superior aos nossos achados. No presente estudo, os animais foram submetidos a 25 minutos de exercício contínuo nas velocidades 15, 20, 25 e 30m.min<sup>-1</sup>, permitindo um maior acompanhamento da cinética do lactato sanguíneo, ao passo que aqueles autores apenas observaram o comportamento do lactato frente a exercício progressivo.

Quanto à concentração de lactato, o exercício em esteira rolante promoveu estabilização em valor significativamente inferior ao observado em natação (figuras 1a e 1b). A concentração lactacidêmica verificada no presente estudo é semelhante ao ponto de inflexão da curva de lactato descrito por Pillis *et al.*<sup>(18)</sup> (4mM) e ao valor obtido em estudo clássico realizado com humanos nesse tipo de exercício<sup>(15)</sup>. Não existem na literatura trabalhos que apresentem resultados de treinamento aeróbio de corrida em máxima fase estável de lactato com ratos Wistar, assim como o realizado por Gobatto *et al.*<sup>(14)</sup> em natação.

Nossos resultados demonstram claramente a ergômetro-dependência do protocolo de máxima fase estável de lactato em exercícios para ratos Wistar, assim como o que ocorre com humanos. Isso sugere a necessidade de cautela na avaliação e prescrição de treinamento físico para esses animais. Mais estudos devem ser realizados com ratos em diferentes condições fisiopatológicas e de treinamento para identificação de possíveis alterações no parâmetro aeróbio avaliado.

## AGRADECIMENTOS

Esse estudo foi suportado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP – Proc. 07070-5/2004) e contou também

com o apoio dos órgãos de fomento CAPES e CNPq (Proc. 300270/2004-16). Agradecemos ao apoio técnico de José Roberto Rodrigues da Silva, Eduardo Custódio e a Clarice Yoshiko Sibuya.

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

## REFERÊNCIAS

1. Wasserman K, McIlroy MB. Detecting the threshold of anaerobic metabolism in cardiac patients during exercise. *Am J Cardiol* 1964;14:844.
2. Monod H, Scherrer J. The work capacity of a synergic muscular group. *Ergonomics* 1965;8:329-38.
3. Kindermann W, Simon G, Keul J. The significance of the aerobic-anaerobic transition for the determination of work load intensities during endurance training. *Eur J Appl Physiol* 1979;42:25-34.
4. Sjödin B, Jacobs I. Onset of blood lactate accumulation and marathon running performance. *Int J Sports Med* 1981;2:23-6.
5. Chassain A. Méthode d'appréciation objective de la tolérance de l'organisme à l'effort: application à la mesure des puissances de la fréquence cardiaque et de la lactatémie. *Science & Sports* 1986;1:41-8.
6. Tegtbur U, Busse MW, Braumann KM. Estimation of an individual equilibrium between lactate production and catabolism during exercise. *Med Sci Sports Exerc* 1993;25:620-7.
7. Gaesser GA, Poole DC. The slow component of oxygen uptake kinetics in humans. *Exerc Sports Sci Rev* 1996;24:35-70.
8. Beneke R. Anaerobic threshold, individual anaerobic threshold, and maximal lactate steady state in rowing. *Med Sci Sports Exerc* 1995;27:863-7.
9. Beneke R. Methodological aspects of maximal lactate steady state-implications for performance testing. *Eur J Appl Physiol* 2003;89:95-9.
10. Billat VL, Siverent P, Py G, Korallstein J-P, Mercier J. The concept of maximal lactate steady state: a bridge between biochemistry, physiology and sport science. *Sports Med* 2003;33:407-26.
11. Oliveira CAM, Luciano E, Mello MAR. The role of exercise on long-term effects of alloxan administered in neonatal rats. *Experimental Physiology* 2005;90:79-86.
12. Braga LR, Mello MAR, Gobatto CA. Exercício contínuo e intermitente: efeitos do treinamento e do destreinamento sobre a gordura corporal de ratos obesos. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición* 2004;54:58-65.
13. Murdes JP, Bortel R, Blanknhin EP, Rossin AA, Garnier DL. Rats models of type 1 diabetes: genetics, environment and autoimmunity. *Ilac J* 2004;45:278-91.
14. 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* 2001;130A:21-7.
15. Heck H, Mader A, Hess G, Mücke S, Müller R, Hollmann W. Justification of the 4mmol/L lactate threshold. *Int J Sports Med* 1985;6:117-30.
16. Marangon L, Gobatto CA, Mello MAR, Kokubun E. Utilization of an hyperbolic model for the determination of the critical load in swimming rats. *Med Sci Sports Exerc (Suppl)* 2002;34:149.
17. Voltarelli FA, Gobatto CA, Mello MAR. Determination of anaerobic threshold in rats using the lactate minimum test. *Braz J Med Biol Res* 2002;35:1-6.
18. Pillis W, Zarzeczny R, Langfort J, Kaciuba-Uscilko H, Nazar K, Wojtyna J. Anaerobic threshold in rats. *Comp Biochem Physiol* 1993;106A:285-9.
19. Gobatto CA, Kokubun E, Sibuya CY, Mello MAR. Efeitos da desnutrição protéico-calórica e do treinamento físico na produção de ácido láctico em ratos machos adultos após teste de cargas progressivas. *Resultados preliminares. Ciência e Cultura* 1991;43:725-6.
20. Harri M, Kuusela P. Is swimming exercise or cold expose for rats? *Acta Physiol Scand* 1986;126:189-97.
21. Dawson-Saunders B, Trapp RG. *Basic and clinical biostatistic*. East Norwalk, Connecticut: Appleton and Lange, 1994.
22. Mujika I, Chatard JC, Busso T, Geyssant A, Barale F, Lacoste L. Effects of training on performance in competitive swimming. *Can J Appl Physiol* 1995;20:395-406.
23. Pyne B, Lee H, Swanwick KM. Monitoring the lactate threshold in world ranked swimmers. *Med Sci Sports Exerc* 2001;33:291-7.
24. Mader A, Heck H. A theory of metabolic origin of the anaerobic threshold. *Int J Sports Med* 1986;7:45-65.
25. Jones AM, Carter H. The effect of endurance training on parameters of aerobic fitness. *Sports Med* 2000;29:373-6.
26. Jones AM, Dousty JH. The validity of the lactate minimum test for determination of the maximal lactate steady state and physiological correlates to 8 km running performance. *Med Sci Sports Exerc* 1998;30:1304-13.
27. Harnish CR, Swensen TC, Pate RP. Methods for estimating the maximal lactate steady state in trained cyclists. *Med Sci Sports Exerc* 2001;33:1052-5.
28. Stegmann H, Kindermann W, Schanabel A. Lactate kinetics and individual anaerobic threshold. *Int J Sports Exerc* 1981;2:160-5.
29. Pereira RR, Zagatto AM, Papoti M, Gobatto CA. Validação de dois protocolos de teste para determinação do limiar anaeróbio em natação. *Motriz* 2002;8:63-8.
30. Langfort J, Zarzeczny R, Pillis W, Kaciuba-Uscilko H, Nazar K, Porta S. Effect of sustained hyperadrenalinemia on exercise performance and lactate threshold in rats. *Comp Biochem Physiol* 1996;114A:51-5.