

Glicogênio muscular e limiar anaeróbio determinado em ratos durante a natação

Fabício Azevedo Voltarelli
Maria Alice Rostom de Mello
Claudio Alexandre Gobatto

Departamento de Biodinâmica -IB - UNESP Rio Claro

Resumo: Limiar Anaeróbio (Lan) pode ser definido como a carga de trabalho na qual o lactato sanguíneo começa a se acumular exponencialmente durante exercícios progressivos. Em humanos, o Lan, determinado pelo teste do lactato mínimo (TLM), sofre influência da redução dos estoques de glicogênio muscular, pois ocorre em concentrações mais baixas de lactato sanguíneo, embora a carga de trabalho não se altere. Faltam informações quanto a esse aspecto em animais de laboratório. O presente estudo visou verificar os efeitos da redução do teor de glicogênio muscular, induzido pelo jejum de 48 horas, sobre o Lan estimado pelo TLM em ratos. A resposta dos animais foi semelhante àquela descrita na literatura para seres humanos, ou seja, a depleção dos estoques de glicogênio muscular não alterou a carga de trabalho equivalente ao Lan, mas reduziu a concentração sanguínea na qual o mesmo ocorreu.

Palavras-chave: Limiar anaeróbio, ratos, natação, glicogênio muscular, jejum.

Muscle glycogen and anaerobic threshold for swimming rats

Abstract: Anaerobic threshold (AT) can be defined as the workload in which blood lactate starts to accumulate exponentially during exercise. In humans, the AT determined by a lactate minimum test (LMT) is influenced by reductions of muscle glycogen stores, which is caused by low blood lactate concentrations. On the other hand, workload is not affected. The literature lacks information about this phenomenon in laboratory animals. The present study attempted to verify the effects of the reduction of the muscle glycogen stores on the AT determined by LMT in rats exposed to a 48-hour fasting. The animals' responses were similar to those described in the literature for human beings. That is, the depletion of the muscle glycogen stores is unaffected by workload equivalent to the AT, but it shows reduced blood lactate concentration.

Key Words: Anaerobic threshold, rats, swimming, muscle glycogen, fasting.

Introdução

Limiar anaeróbio (Lan) pode ser definido como a carga de trabalho na qual o lactato sanguíneo começa a se acumular exponencialmente durante exercícios progressivos e é considerado bom indicador do condicionamento aeróbio e tem sido utilizado na prescrição de treinamento em diferentes modalidades de exercício (WASSERMAN; Mc. ILROY, 1964; KINDERMAN et al., 1979; TEGTBUR et al., 2001).

TEGTBUR et al. (1993) desenvolveram um protocolo de teste para a determinação do Lan, denominado teste do lactato mínimo (TLM). Esse teste envolve a realização de exercício supramáximo, por um breve período de tempo, visando a indução da hiperlactacidemia antes do início do teste padrão com cargas progressivas em esteira rolante. Lactato sanguíneo mínimo (LSM) foi definido como a velocidade na

qual a curva em forma de "U", obtida com os valores de lactato sanguíneo durante o teste progressivo, atinge o nadir. Esse valor mínimo de lactato sanguíneo supostamente indica o Lan (JONES; DOUST, 1998; TEGTBUR et al., 1993; RIBEIRO et al., 2003).

Por razões óbvias, grande número de pesquisas envolvendo o exercício físico tem sido conduzido em animais de laboratório, especialmente o rato e as concentrações de lactato, utilizadas para a determinação da intensidade de esforço. Como existem diferenças metabólicas entre seres humanos e ratos, é razoável especular sobre potenciais diferenças entre espécies com respeito ao fluxo de lactato e outras variantes durante o exercício. Apesar da importância do problema, ainda são raros os estudos que tratam da cinética de lactato em ratos durante o exercício.

Uma vez que a determinação do lactato mínimo requer apenas um teste realizado em um único dia, poderia ser adequado à obtenção do Lan em ratos durante exercício de natação. Dessa forma, nosso grupo recentemente desenvolveu estudos visando padronizar um protocolo para a determinação do Lan em ratos durante a natação utilizando os princípios do TLM estabelecidos por Tegtbur et al. (1993). Em nosso estudo, o Lan médio calculado dos animais foi obtido na carga de $4,95 \pm 0,10\%$ do peso corporal, enquanto que a concentração média de lactato sanguíneo foi obtida, nessa carga, à $7,17 \pm 0,16$ mmol/L (VOLTARELLI et al. 2002).

Existem, ainda, outros pontos que permanecem obscuros e necessitam de esclarecimento antes do emprego, com finalidades práticas, do TLM para estimar o Lan em ratos. Conforme demonstrado em seres humanos, a depleção dos estoques de glicogênio muscular pode reduzir a concentração de lactato sanguíneo a uma dada carga de exercício (TEGTBUR et al., 1993). Com base nessas informações, seriam intensidade de exercício e concentração sanguínea de lactato equivalentes ao Lan determinado pelo TLM, em ratos, afetadas pela redução do glicogênio muscular?

Objetivos

O presente estudo teve como objetivo verificar a relação entre teor reduzido de glicogênio muscular e Lan determinado pelo teste do lactato mínimo em ratos durante exercício de natação.

Materiais e Métodos

Animais

Foram utilizados ratos da linhagem Wistar, machos, adultos (90-100 dias de idade) sedentários, cujas mães eram provenientes do Biotério Central da Universidade Estadual Paulista (UNESP) – Botucatu/SP. Os animais permaneceram em gaiolas coletivas (5 ratos por gaiola) e foram alimentados com ração comercial (Purina®) para roedores e água *ad libitum* bem como mantidos sob ciclo periódico claro e escuro de 12 horas à temperatura média de $25 \pm 2^\circ\text{C}$.

Adaptação ao meio líquido

A adaptação consistiu em manter o animal em contato com água rasa à temperatura de $32 \pm 2^\circ\text{C}$, durante 3 semanas, 5 dias por semana por 30 minutos. Nas 2ª e 3ª semanas de adaptação, os mesmos suportaram sobrecargas de chumbo inseridas em “mochilas” de pano fechadas com velcro® e atadas ao tórax com o auxílio de um elástico (VOLTARELLI et al., 2002). O propósito da adaptação foi reduzir o estresse dos animais frente ao exercício físico realizado na água (GOBATTO et al., 2001).

TLM adaptado às condições do rato

Inicialmente, os animais foram colocados no tanque cheio d'água suportando sobrecarga equivalente a 50% do peso corporal e exercitaram-se, anaerobiamente (saltos), durante 6 minutos (30 segundos de exercício interrompidos por 30 segundos de repouso), para a elevação da concentração de lactato sanguíneo circulante. Após 9 minutos de repouso, os animais iniciaram exercício de natação com intensidades progressivamente maiores (4,0; 4,5; 5,0; 5,5 e 6,0 % do peso corporal), com duração de 5 minutos de exercício em cada carga. Antes do início do teste (repouso) e a cada troca de carga, foram coletadas amostras de sangue (25µl) para a determinação do lactato no Analisador Eletroquímico YSL® modelo 1500 SPORT, Yellow Spring, OH, USA (VOLTARELLI et al., 2002). A curva lactato sanguíneo vs carga de trabalho, para cada rato, determinada no teste, foi obtida por ajuste polinomial de grau 2, com auxílio de um programa de computador (MICROSOFT OFFICE - EXCEL®). Procedeu-se, então, a determinação matemática, pela análise da função, do menor valor da concentração de lactato sanguíneo e respectiva carga de trabalho. Esse menor valor indicou o Lan individual.

Jejum

Tegtbur et al. (1993) demonstraram em sujeitos humanos, que embora os valores de lactato sanguíneo sejam mais baixos em condições de depleção do glicogênio muscular, isso não afeta a intensidade equivalente ao Lan determinado pelo TLM. Essa série de testes foi efetuada para verificar se estoques normais ou baixos de glicogênio muscular nos ratos antes do início da aplicação do teste, alterariam a intensidade de exercício equivalente ao Lan. Para isso, os animais foram submetidos a jejum de 48 horas, condição que sabidamente depleta os estoques de glicogênio muscular (LI, Jing et al., 1993) e avaliados quanto ao Lan através do TLM. Imediatamente após a realização do teste, os animais foram sacrificados e o músculo sóleo da pata direita foi removido para determinação das concentrações de glicogênio. Animais no estado alimentado foram simultaneamente submetidos ao TLM, sacrificados e analisados quanto ao teor de glicogênio do músculo sóleo. Para fins de comparação, foi também avaliado o teor de glicogênio no músculo sóleo de ratos no estado alimentado e/ou após jejum de 48 horas, sacrificados em repouso.

Grupos Experimentais

De acordo com o estado alimentar e a execução ou não de teste de esforço, formaram-se quatro (4) grupos experimentais: Jejum/Exercício (J/E), Alimentado/Exercício (A/E), Jejum/Repouso (J/R) e Alimentado/Repouso (A/R).

Determinação do teor de glicogênio do músculo sóleo de ratos

Imediatamente após a realização do TLM (grupos J/E e A/E) e/ou em repouso (grupos J/R e A/R), os animais foram decapitados e exanguinados. Aliquotas de tecido do músculo sóleo foram separadas para determinação do glicogênio pelo método colorimétrico com fenol e ácido sulfúrico (SIU LO; TAYLOR, 1970).

Análise Estatística

Os dados foram expressos como Média \pm Desvio Padrão. Foi utilizada Análise de Variância (ANOVA), seguida de BONFERRONI, e Teste t-student. O nível de significância foi de $p < 0,05$.

Resultados

As Figuras 1 e 2 mostram os valores do Lan calculados através da equação polinomial de grau 2 que definiu a curva lactato sanguíneo (mmol/l) vs carga de trabalho (% peso corporal), para um rato de cada grupo (J/E e A/E) durante o TLM de natação. A título de exemplo, o Lan individual calculado do animal do grupo J/E foi obtido na carga de 4,93% do peso corporal, na concentração de 4,65mmol/l de lactato sanguíneo (Figura 1). Em relação ao grupo A/E, o Lan individual calculado para o animal ocorreu na carga de 4,89% do peso corporal à uma concentração de 6,41mmol/l de lactato sanguíneo (Figura 2).

A Tabela 1 contém os valores individuais e médios referentes à carga de exercício (% do peso corporal) e concentração de lactato sanguíneo (mmol/L) equivalentes ao Lan individual dos animais pertencentes aos grupos Alimentado e Jejum de 48 horas estimados pelo TLM.

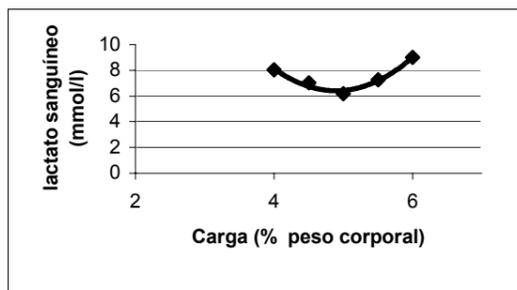


Figura 1. Curva lactato sanguíneo vs carga de trabalho durante teste do lactato mínimo de um rato do grupo Alimentado/Exercício (A/E). A curva foi obtida por ajuste polinomial de grau 2, com auxílio de programa de computador (EXCEL®). A equação $y = 2,1286x^2 - 20,848x + 57,454$, que define a curva, possibilitou o cálculo do menor valor da concentração de lactato sanguíneo (6,41mmol/l) e respectiva carga de trabalho (4,89% do peso corporal). Esse menor valor de lactato sanguíneo indica a carga de trabalho equivalente ao Lan.

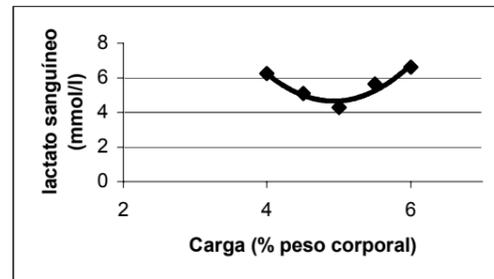


Figura 2. Curva lactato sanguíneo vs carga de trabalho durante teste do lactato mínimo de um rato do grupo Jejum de 48 horas/Exercício (J/E). A curva foi obtida por ajuste polinomial de grau 2, com auxílio de programa de computador (EXCEL®). A equação $y = 1,8314x^2 - 18,056x + 49,156$, que define a curva, possibilitou o cálculo do menor valor da concentração de lactato sanguíneo (4,65mmol/l) e respectiva carga de trabalho (4,93do peso corporal). Esse menor valor de lactato sanguíneo indica a carga de trabalho equivalente ao Lan.

Tabela 1. Valores de lactato sanguíneo (mmol/L) e carga de trabalho referentes ao Limiar Anaeróbio individual dos grupos Alimentado Exercício (A/E) e Jejum de 48 horas Exercício (J/E) durante o TLM.

A/E	Carga	Lactato Sanguíneo
Rato 1	4,92	6,57
Rato 2	4,91	6,42
Rato 3	4,91	6,83
Rato 4	4,93	6,52
Rato 5	4,96	6,67
Rato 6	4,92	6,44
Rato 7	4,89	6,41
Média \pm	4,92 \pm	6,55 \pm
DP	0,022	0,154
J/E		
Rato 1	4,84	4,94
Rato 2	4,85	4,83
Rato 3	4,85	4,78
Rato 4	4,83	4,67
Rato 5	4,87	5,12
Rato 6	4,93	4,89
Rato 7	4,93	4,65
Média \pm	4,87 \pm	4,84 \pm *
DP	0,042	0,163

DP= Desvio Padrão

* $p < 0,05$ em relação aos valores de lactato sanguíneo do grupo A/E

A Tabela 2 mostra os valores médios de glicogênio tecidual (mg/100mg) do músculo sóleo dos animais pertencentes aos grupos sacrificados em repouso (J/R e A/R) e imediatamente após a realização do TLM de natação (J/E e A/E). As concentrações de glicogênio do músculo sóleo do grupo J/R foram significativamente menores em relação ao grupo A/R. As taxas de glicogênio do músculo sóleo referentes ao grupo A/E mostraram-se significativamente maiores em relação ao grupo J/E

Tabela 2. Teores de glicogênio (mg/100mg) no músculo sóleo dos animais nas situações: estado Alimentado Exercício (A/E), sacrificados após o TLM; estado Alimentado, sacrificados em repouso (A/R); Jejum de 48 horas Exercício (J/E), sacrificados após o TLM e Jejum de 48 horas, sacrificados em repouso (J/R).

	A/E	A/R	J/E	J/R
Média	0,092	0,128	0,039**	0,050*
Desvio Padrão	0,003	0,011	0,002	0,002
n	7	5	7	5

TLM= Teste do Lactato Mínimo

* p < 0,05 em relação à situação A/R

** p < 0,05 em relação à situação A/E

Discussão

Apesar das inúmeras tentativas, as bases fisiológicas para o acúmulo de lactato sanguíneo durante o exercício ainda não foram totalmente elucidadas. Em diferentes estudos, a hipótese de que a formação de lactato durante o exercício submáximo seja devida a hipóxia tecidual foi questionada. Na verdade, esses estudos sugerem que os dados experimentais existentes possam ser interpretados de maneira alternativa e que a formação de lactato durante o exercício submáximo é consequência da redução na disponibilidade de oxigênio na mitocôndria (KHATZ; SAHLIN, 1990; BROOKS, 2000). Apesar disso, a determinação de “limitares”, isto é, determinação da intensidade de exercício na qual o lactato sanguíneo começa a se acumular desproporcionalmente, denominado Limiar Anaeróbio (Lan), tem-se mostrado ferramenta útil na prescrição de exercícios (SJODIN et al., 1981; JONES; CARTER, 2000; BILLAT et al., 2003).

Para fins práticos, o Lan tem sido empregado submetendo-se o sujeito a esforços com cargas progressivamente mais elevadas e concomitante avaliação da concentração do lactato sanguíneo. A determinação do Lan pode ser feita baseando-se no desvio da linha de base da concentração circulante de lactato ou na intensidade de trabalho correspondente a uma concentração fixa de lactato circulante. O primeiro método fundamenta-se no fato de que o aumento não linear da concentração de lactato sanguíneo em relação à intensidade do exercício indica a transição do metabolismo, conforme definiram Wasserman e Mc. Ilroy (1964), Kinderman et al. (1979) e Simões et al. (2000). Já o segundo procedimento assume o princípio de que até uma determinada concentração circulante de lactato, ocorre um equilíbrio entre a produção muscular e a remoção desse substrato da circulação, conforme postulou Heck et al. (1985).

A determinação do Lan tem-se mostrado, também, valiosa em estudos clínicos (WASSERMAN; Mc. ILROY, 1964; NEIVA et al., 1999). Uma vez que existem limitações óbvias

nas pesquisas com seres humanos, em especial nos estudos clínicos, modelos animais têm fornecido importantes informações quanto à realização de exercício físico sob diversas condições experimentais, incluindo obesidade (SCALFANI, 1984), diabetes (LUCIANO; MELLO, 1999), desnutrição (GALDINO et al., 2000) e jejum (STEVANATO, 1999).

A proposta principal do presente estudo foi verificar a relação entre teor reduzido de glicogênio muscular (induzido pelo jejum de 48 horas) e Lan determinado pelo teste do lactato mínimo (TLM) em ratos durante exercício de natação.

No TLM originalmente descrito por Tegtbur et al. (1993) para humanos, a acidose láctica inicial foi induzida em atletas por duas corridas exaustivas consecutivas. A segunda corrida foi seguida por 8 minutos de recuperação (andar lento). Em seguida, foi iniciado o teste progressivo de corrida.

Com base nessas informações, desenvolvemos, em nosso laboratório, um teste para determinar o Lan durante exercício de natação, utilizando os princípios básicos do TLM proposto por Tegtbur et al. (1993), adaptado às condições do rato (VOLTARELLI et al., 2002). O Lan, nesse último estudo (VOLTARELLI et al., 2002), foi obtido na carga média calculada de 4,95±010% do peso corporal do animal na concentração média de lactato sanguíneo calculada de 7,17±0,16mmol/l.

Os valores calculados de intensidade de exercício e lactato sanguíneo, correspondentes ao Lan, de apenas um rato do grupo A/E do presente estudo estão contidos na figura 1. Como se pode observar, a carga de exercício e concentração de lactato sanguíneo, equivalentes ao Lan, determinados nesse animal, mostraram-se semelhantes aos valores obtidos por Voltarelli et al. (2002). O mesmo foi observado nos valores médios do grupo. Tais resultados sugerem potencial aplicação deste procedimento em estudos que visem a prescrição de exercício de natação para ratos. Contudo, antes da adoção do teste com esta finalidade, é necessário conhecer melhor as respostas metabólicas decorrentes da aplicação dessa técnica, de maneira semelhante a que ocorreu com o teste originalmente proposto para seres humanos (TEGTBUR et al., 1993).

Uma das etapas do estudo desenvolvido por Tegtbur et al. (1993), mostra que a depleção dos estoques de glicogênio muscular pode reduzir a concentração de lactato sanguíneo a uma dada carga de exercício durante a realização do TLM por humanos. Os sujeitos deste estudo (TEGTBUR et al., 1993) realizaram o teste com estoques normais (dieta rica em carboidrato (CHO) + repouso um dia antes do teste, para

assegurar que os estoques de glicogênio muscular não fossem depletados) e reduzidos (dieta pobre em CHO + exercício de alta intensidade um dia antes do teste, procedimento no qual a redução dos estoques de glicogênio muscular é esperada Bonem et al., 1985; Greenhaff et al., 1988) de glicogênio muscular. Com base nessas informações, submetemos os animais ao jejum de 48 horas, condição que sabidamente depleta os estoques de glicogênio muscular (LI, Jing et al., 1993) e os avaliamos quanto ao Lan através do TLM.

Como podemos observar na Tabela 2, o jejum de 48 horas foi eficaz em reduzir, significativamente, os estoques de glicogênio (mg/100mg) nos ratos do grupo J/R quando comparados ao grupo A/R, mimetizando nos animais a condição de redução de estoque de glicogênio muscular proposta no estudo de Tegtbur et al. (1993) com seres humanos.

No estudo de Tegtbur et al. (1993), a carga de trabalho (velocidade de corrida) correspondente ao Lan dos sujeitos de ambos os grupos (dieta rica em CHO = 4,7m/s e pobre em CHO = 4,7m/s) não foi alterada quando da realização do TLM. Em contrapartida, a concentração de lactato sanguíneo, correspondente ao Lan dos sujeitos, foi obtida em níveis consideravelmente menores no grupo que recebeu dieta pobre em CHO ($3,1 \pm 1,7$ mmol/l) quando comparada ao grupo que recebeu dieta rica em CHO ($3,7 \pm 2,2$ mmol/l), corroborando achados anteriores descritos por Maassen e Busse (1989).

No presente estudo com animais, podemos observar, nas Figuras 1 e 2, que o comportamento dos resultados, tanto de carga de trabalho quanto de lactato sanguíneo, foram equivalentes aos encontrados por Tegtbur et al. (1993). A carga de trabalho correspondente ao Lan do animal pertencente ao grupo J/E (Figura 2) foi semelhante à determinada no animal do grupo A/E (Figura 1). No entanto, a concentração de lactato sanguíneo, correspondente ao Lan do animal do grupo J/E apresentou-se significativamente menor em relação ao valor obtido no animal do grupo A/E. A mesma diferença foi observada nos valores médios calculados, referentes ao Lan, do grupo J/E quando comparados com os resultados do grupo A/E (Tabela 1).

Resultados que demonstram a influência dos estoques de glicogênio muscular na concentração de lactato sanguíneo durante o exercício estão contidos na Tabela 2. Podemos observar que os valores médios dos teores de glicogênio (mg/100mg) obtidos do músculo sóleo do grupo J/E mostraram-se em níveis significativamente menores quando comparados aos valores médios da mesma variável do grupo A/E. A menor concentração de lactato sanguíneo, equivalente ao Lan, apresentada pelos animais do grupo J/E pode, então, ser

Motriz, Rio Claro, v.10, n.1, p.25-30, jan./abr. 2004

explicada pela diminuição de 32% no conteúdo total de glicogênio do músculo sóleo de ratos submetidos ao jejum de 48 horas em relação aos alimentados. Tal situação, sabidamente, reduz oxidação de carboidratos, a síntese de glicogênio, e, principalmente, a menor produção muscular de lactato (LI Jing et al., 1993). Por outro lado, a intensidade (carga de exercício) equivalente ao Lan não foi afetada pela redução dos estoques musculares de glicogênio, indicando a fidedignidade da técnica utilizada para estima-lo.

Conclusão

- O Lan de ratos submetidos à redução dos estoques de glicogênio muscular foi obtido em carga de exercício (% do peso corporal) semelhante à de ratos controle alimentados. Em contrapartida, a concentração de lactato sanguíneo (mmol/l) na carga de exercício equivalente ao Lan foi menor.
- A resposta observada nos ratos foi semelhante àquela descrita na literatura para seres humanos, ou seja, a depleção dos estoques de glicogênio muscular não alterou a carga de trabalho equivalente ao Lan, mas reduziu a concentração de lactato sanguíneo, na qual o mesmo apareceu.
- Em conjunto, estas informações indicam a fidedignidade da técnica aqui descrita para a estimativa do Lan em ratos.

Referências

- BILLAT, V.L.; SIRVENT, P.; KORALSZTEIN, J.P.; MERCIER, J. The concept of maximal lactate steady state: a bridge between biochemistry, physiology and sport science (review). **Sports Medicine**, Paris, v.33, n.6, p.407-426, 2003.
- BONEM, A; NESS, G.W; BELCASTRO, A.N; KIRBY, R.L. Mild exercise impedes glicogen repletion in muscle. **Journal of Applied Physiology**, London, v.58, p.1622-1629, 1985.
- BROOKS, G.A. Intra-and extracellular lactate shuttles. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, New York, v.32, p.790-799, 2000.
- GALDINO, R. S.; SOUZA, C. C. A.; LUCIANO, E.; MELLO, M. A. R. Protein calorie malnutrition does not impair glucose metabolism adaptations to physical exercise. **Nutrition Research**, Zurike, v.20, p.257-535, 2000.
- GOBATTO, C.A; MELLO, M.A.R; SIBUYA, C.Y; AZEVEDO, J.R.M; SANTOS, L.A; KOKUBUN, E. Maximal lactate steady state in rats submitted to swimming exercise. **Comparative Biochemistry and Physiology**, New York, v.130, p.21-27, 2001.
- GREENHAFF, P.L; GLEESON, M; MAUGHAN, R.J. Diet-induced metabolic acidosis and the performance of high

intensity exercise in man. **European Journal Applied Physiology**, London, v.57, p.583-590, 1988.

HECK, H; MADER A.; HESS, G.; MUCK, S.; HOLLMAN, W. Justification of the 4,0 mmol/L lactate threshold. **International Journal of Sports Medicine**, New York, v.6, p.117-130, 1985.

JONES, A. M.; CARTER, H. The effect of endurance training on parameters of aerobic fitness. **Sports Medicine**, Paris, v.29, p.373-376, 2000.

JONES, A. M.; DOUST, J. H. The validity of the lactate minimum test for determination of the maximal lactate steady state and physiological correlates to 8 Km running performance. **Medicine Science of Sports Exercise**, New York, v.30, p.1304-1313, 1998.

KHATZ, A.; SAHLIN, K. Role of oxygen in regulation of glycolysis and lactate production in human skeletal muscle. **Exercise Sports Science**, Borussia, v.19, n.39, p.1-28, 1990.

KINDERMAN, W; SIMON, G.; KEUL, J. The significance of the aerobic-anaerobic transition for the determination of work load intensities during endurance training. **European Journal Applied Physiology**, London, v.42, p.25-34, 1979.

JING, LI; STILLMAN, J. S; CLORE, J. N; BLACKARD, W. G. Skeletal muscle lipids and glycogen mask substrate competition (Randle cycle). **Metabolism**, Toronto, v.42, n.4, p.451-456, 1993.

LUCIANO, E; MELLO, M.A.R. Atividade física e metabolismo de proteína em músculos de ratos diabéticos. **Revista Paulista de Educação Física**, São Paulo, v.12, p.202-209, 1999.

MAASSEN, N; BUSSE, M.W. The relationship between lactic acid and work load – a measure for endurance capacity or an indicator of carbohydrate deficiency? **European Journal Applied Physiology**, London, v.58, p.728-737, 1989.

NEIVA, C.M; BUNC, V; MELLO, M. Glicemia, insulinemia e trigliceridemia de ratos diabéticos experimentais e alimentados com dieta hiperlipídica, submetidos a treinamento físico por aeróbio e anaeróbio. **Revista Científica da Universidade de Franca**, Franca v. 15, p.201-210, 1999.

RIBEIRO, L; BALIKIAN, P; MALACHIAS, P; BALDISSERA, V. Stage length, spline function and lactate minimum swimming speed. **Journal of Sports Medicine and Physical Fitness**, Orlando, v.43, n.3, p.312-318, 2003.

SCALFANI, A. Animal models of obesity: classification and characterization. **Zutern Journal of Obesity**, Viena, v.8, p.497-508, 1984.

SIMÕES, H.G.; CAMPBELL, C.S.G.; TANGO, M.H.; MELLO, F.; MAZIERO, D.C.; BALDISSERA, V. Lactate

minimum test in swimming relationship to performance and maximal lactate steady state. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, New York, v.32, p.S161, 2000.

SIU LO, J.C.R.; TAYLOR, A.W. Determination of glycogen in small tissue samples. **Journal of Applied Physiology**, London, v.8, n.2, p.45-59, 1970.

SJODIN, B. and JACOBS, I. On set of blood lactate accumulation and marathon running performance. **International Journal of Sports Medicine**, New York, v.2, p.23-26, 1981.

STEVANATO, E. **Efeitos do jejum sobre a interação entre o metabolismo de ácidos graxos livres e glicose em músculo esquelético de ratos treinados**. 1999. Dissertação (Mestrado em Ciências da Motricidade) – Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 1999.

TEGTBUR, U; BUSSE, M. W.; BRAUMANN, K. M. Estimation of individual equilibrium between production and catabolism during exercise. **Medicine Science of Sports Exercise**, New York, v.25, n.5, p.620-627, 1993.

TEGTBUR, U; MACHOLD, H; MEYER, H; STORP, D; BUSSE, M.W. Determining the extent of extensive physical performance in patients with coronary heart disease. **Zeitschrift fur Kardiologie**, Frankfurt, v.90, p.637-645, 2001.

VOLTARELLI, F.A.; GOBATO, C.A.; MELLO, M.A.R. Determination of anaerobic threshold in rats using the lactate minimum test. **Brazilian Journal of Medicine and Biological Research**, Ribeirão Preto, v.35, p.1389-1394, 2002.

WASSERMAN, K.; Mc ILROY, M. B. Detecting the threshold of anaerobic metabolism in cardiac patients during exercise. **American Journal of Cardiology**, Washington, v.14, p.844-852, 1964.

Agradecimentos

Os autores agradecem a Clarice Y. Sibuya, José Roberto R. da Silva e Eduardo Custódio pelo excelente suporte técnico e pela indispensável colaboração na coleta de dados. Agradecemos também a FAPESP pelo apoio financeiro (processo número 02/10296-0)

Endereço:

Fabício Azevedo Voltarelli
Avenida 24-A, 1515 – Bela Vista
Rio Claro SP
13506-900
e-mail: fawistar@yahoo.com.br

Manuscrito recebido em 15 de outubro de 2003.

Manuscrito aceito em 27 de maio de 2004.