

DETERMINAÇÃO DA TRANSIÇÃO METABÓLICA ATRAVÉS DO TESTE DO LACTATO MÍNIMO EM RATOS DESNUTRIDOS DURANTE EXERCÍCIO DE NATAÇÃO¹

DETERMINATION OF METABOLIC TRANSITION BY LACTATE MINIMUM TEST IN MALNOURISHED RATS DURING SWIMMING EXERCISE

Fabício Azevedo Voltarelli*
Claudio Alexandre Gobatto*
Maria Alice Rostom de Mello*

RESUMO

O presente estudo foi delineado para determinar a transição metabólica (TM) durante o teste do lactato mínimo de natação (TLM) em animais sedentários submetidos a desnutrição protéica. Ratos Wistar jovens foram separados em dois grupos: controle caseína 17% (C) (30 aos 150 dias de idade); e desnutrido caseína 6% (D) (30 aos 150 dias de idade). Foram avaliados: a) bioquímica sanguínea: concentrações de AGL, albumina e proteínas totais; b) fígado: concentrações de lipídios e c) peso e comprimento corporais. Para determinação da TM, utilizou-se o TLM adaptado às condições do rato. Foi utilizado teste *t* de *student* para amostras independentes para indicar diferenças estatísticas entre os grupos ($P < 0,05$). Os animais do grupo D mostraram hipoalbuminemia, hipoproteinemia e baixo peso corporal, que são sinais de desnutrição. Os ratos desnutridos apresentaram concentração de lactato sanguíneo equivalente a TM inferior à apresentada pelos animais-controle em uma mesma carga de exercício.

Palavras-chave: Teste do lactato mínimo. Ratos. Desnutrição protéica.

INTRODUÇÃO

A desnutrição protéica se caracteriza como um problema de saúde pública, afetando grande parte da população mundial, principalmente em países em desenvolvimento (DÂMASO, 2001). No Brasil, mesmo em regiões com alta renda *per capita*, há uma incidência significativa de desnutrição: 6% (BRASIL, 1996). Em outras regiões as taxas de desnutrição são ainda maiores: 17% da população com menos de cinco anos de idade são desnutridos (BATISTA FILHO; RISSIN, 2003).

O *kwashiorkor* é uma manifestação clínica da desnutrição protéica, caracterizada pelo decréscimo das taxas corporais totais de síntese e degradação protéicas e pela diminuição dos níveis de atividade física, sendo estes considerados uma adaptação à ingestão inadequada de proteína. Os sintomas iniciais

de deficiência protéica, incluindo perda de peso, atraso no crescimento, fadiga e insuficiência energética, são não-específicos, porque podem ocorrer após uma deficiência na quantidade ou na qualidade da proteína (DÂMASO, 2001). A desnutrição protéica representa alterações metabólicas e fisiológicas e resulta em populações adultas com baixa estatura, se comparadas às populações bem-nutridas (TORUN; CHEW, 1994). Estatura baixa é freqüentemente relacionada a redução da capacidade de trabalho e de *performance* (TORUN; CHEW, 1994), no entanto, são raras na literatura as informações a respeito da capacidade bioquímica de organismos desnutridos para a realização do exercício físico.

Uma vez que existem limitações óbvias em estudos com seres humanos, modelos experimentais oferecem uma condição

¹ Apoio: Capes.

Universidade Estadual Paulista – Unesp Campus Rio Claro.

alternativa para solucionarmos o problema. Recentemente, nosso grupo desenvolveu um protocolo para avaliação de ratos durante o exercício de natação (VOLTARELLI et al., 2002), baseado nos princípios fundamentais do teste do lactato mínimo (TLM), originalmente descrito para a avaliação de atletas (TEGTBUR et al., 1993).

O TLM original envolve a realização de exercício supramáximo por um curto período de tempo, com o objetivo de induzir a hiperlactacidemia antes do início do teste-padrão efetuado com cargas progressivas em esteira rolante. O lactato sanguíneo mínimo foi definido como a velocidade na qual a curva em forma de “U” obtida através dos valores de lactato sanguíneo, durante o teste progressivo, atinge o nadir. Esse valor de lactato sanguíneo mínimo supostamente indica a transição metabólica (TM) aeróbio/anaeróbio durante o exercício (TEGTBUR et al., 1993). Usando o protocolo adaptado para as condições do rato, nós fomos capazes de determinar, com sucesso, a transição metabólica de ratos eutróficos durante exercício de natação (VOLTARELLI et al., 2002).

Partindo do princípio de que a determinação do lactato sanguíneo mínimo requer apenas um teste, efetuado somente em um dia, tal teste pode ser adequado para ratos submetidos a desnutrição protéica durante o exercício de natação. Portanto, o presente estudo teve como objetivo determinar a transição metabólica aeróbio/anaeróbio pelo teste do lactato mínimo, adaptado às condições do rato durante a natação, em animais sedentários submetidos a desnutrição protéica. Animais sedentários não submetidos a desnutrição protéica (controles) foram também avaliados pelo teste do lactato mínimo, para fins de comparação.

MATERIAL E MÉTODOS

Animais

Todos os experimentos envolvendo animais, no presente estudo, seguiram as resoluções específicas brasileiras de Bioética de Experimentos com Animais (Lei número 6.638 de 8 de maio de 1979; Decreto número 24.645 de 10 de Julho de 1934, Colégio Brasileiro de Experimentação Animal). Foram utilizados ratos da linhagem *Wistar*, jovens (30 dias de idade, no

início do experimento), 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 dietas semipurificadas e água *ad libitum*, bem como mantidos sob ciclo periódico claro e escuro de 12 horas à temperatura média de $25\pm 2^{\circ}\text{C}$.

Dietas e grupos

Os ratos ($n=20$) foram divididos, randomicamente, em dois grupos grupo-controle e grupo desnutrido - e alimentados com dietas protéicas isocalóricas (3948 Kcal/kg) normoprotéica (caseína 17%) ou hipoprotéica (caseína 6%) *ad libitum* durante 16 semanas, respectivamente. A dieta normoprotéica contve quantidades de carboidrato (39,7% de amido de milho; 13,2% de dextrina e 10% de sacarose), gordura (7,0% de óleo de soja), fibra (5,0% de fibra microcelulose), mistura de sais minerais (3,5%) e mistura de vitaminas (1,0%), de acordo com as recomendações do American Institute of Nutrition (AIN-G93) (REEVES et al., 1993). A dieta hipoprotéica contve mais carboidrato (44,4% de amido de milho; 17,8% de dextrina e 14,9% de sacarose), mas a mesma quantidade de gordura, fibra e misturas de sais minerais e vitaminas, se comparada à dieta-controle.

Durante todos os procedimentos experimentais, os animais foram pesados e medidos (comprimento focinho-ânus) semanalmente. A ingestão alimentar foi acessada diariamente.

Ao final de 8 semanas, os ratos de ambos os grupos foram submetidos ao TLM de natação para a determinação da TM (% do peso corporal e concentração de lactato sanguíneo / mmol/L).

Adaptação ao meio líquido

A adaptação consistiu em manter os animais em contato com água rasa à temperatura de $32\pm 2^{\circ}\text{C}$, durante três semanas, cinco dias por semana, por 45 minutos. Na 2ª e 3ª semanas de adaptação, os ratos suportaram sobrecarga equivalente a 5% do peso corporal. O propósito da adaptação foi reduzir o estresse dos animais frente ao exercício físico realizado na água.

Teste do lactato mínimo (TLM) adaptado às condições do rato

Inicialmente, os animais foram colocados em tanques cilíndricos individuais (50cm de profundidade e 25cm de diâmetro) cheios de água, e suportaram sobrecarga equivalente a 15% do peso corporal, realizando exercício de alta intensidade durante 6 minutos (30 segundos de exercício interrompidos por 30 segundos de repouso) para a elevação da concentração de lactato sanguíneo. Após 9 minutos de repouso, os animais iniciaram exercício de natação com intensidades progressivamente maiores (3,0; 3,5; 4,0; 4,5; 5,0; 5,5 e 6,5% do peso corporal), 5 minutos em cada carga (VOLTARELLI et al., 2002). Antes do início do teste (repouso) e a cada troca de carga, amostras de sangue foram coletadas (25µl) para a determinação da concentração de lactato. Os valores mínimos de lactato sanguíneo (mmol/L) e de carga de exercício (% do peso corporal) foram obtidos através do Microsoft Excel (função polinomial de 2º grau) e, por sua vez, indicaram a transição metabólica aeróbio/anaeróbio.

Sacrifício dos animais

Ao final do experimento, os ratos foram sacrificados por decapitação para a coleta de material biológico: a) amostras de sangue, para determinação das concentrações de proteínas totais, albumina e ácidos graxos livres (AGL) e b) alíquotas do fígado, para determinação das concentrações de lipídio.

Avaliações bioquímicas

As concentrações séricas de proteínas totais, albumina e AGL e as concentrações de lipídio no fígado foram determinadas pelos métodos colorimétricos, de acordo com Nogueira et al. (1990). A concentração de lactato sanguíneo foi determinada pelo método enzimático, proposto por Engels e Jones (1978).

Análise estatística

Os dados foram expressos como média ± desvio-padrão. Foi utilizado teste t de *student* para amostras independentes para indicar diferenças significativas entre os grupos. O nível de significância foi preestabelecido em 5%.

RESULTADOS

Efeitos da dieta hipoprotéica sobre o estado nutricional

Pode-se observar, a partir da Tabela 1, que após 16 semanas os ratos desnutridos mostraram ganho de peso corporal e incremento no comprimento corporal (comprimento focinho - ânus) reduzidos, baixas concentrações de proteína sérica, albumina e AGL e elevada concentração de lipídio no fígado quando comparados ao grupo-controle. A respeito do baixo ganho de peso corporal observado nos animais desnutridos, não foram encontradas diferenças significativas na ingestão alimentar por grama de peso corporal, observada durante o período experimental, entre os dois grupos.

Tabela 1 - Ganho de peso corporal (n=10; g), incremento no comprimento corporal (ICC) (n=10; cm) e ingestão alimentar (g/100g de peso corporal/dia) e concentrações de lipídios no fígado (n=8; mg/100mg), albumina (n=8; g/dL), AGL (n=8; µEq/L) e proteína (n=8; g/dL) séricos utilizados para avaliação do estado nutricional dos animais.

Parâmetros	Caseína 17%	Caseína 6%
Ganho de peso corporal	435,7±31,4	222,9±53,3*
ICC	11,8±0,8	7,3±0,9*
Ingestão alimentar	12,6±0,9	12,5±0,8
Lipídios no fígado	4,4±0,5	12,0±1,2*
Albumina sérica	7,4±0,4	3,8±0,4*
AGL sérico	382,5±31,0	170,0±23,9*
Proteína sérica	7,5±0,2	4,5±0,3*

* Diferença significativa em relação ao grupo Caseína 17% (p < 0,05; teste t de student para amostras independentes).

Efeitos da dieta hipoprotéica sobre a concentração de lactato sanguíneo durante o TLM

A concentração de lactato sanguíneo de apenas um rato de cada grupo e sua respectiva carga de trabalho durante o teste do lactato mínimo estão apresentadas nas figuras 1 e 2. A curva referente aos valores de lactato sanguíneo derivada do teste de natação com cargas incrementais apresentou, como esperado, a forma de "U". A TM calculada para o rato-controle (Figura 1) foi obtida na carga de 4,8% do peso

corporal na concentração de 6,3 mmol/L de lactato sanguíneo. Em relação ao animal desnutrido (Figura 2), a TM foi calculada na carga de 4,9% do peso corporal a 4,2mmol/L de concentração de lactato sanguíneo. Os valores médios calculados de TM, expressos como a carga em que o lactato sanguíneo mínimo apareceu, para todos os animais de ambos os grupos, foi de 4,9±0,3% do peso corporal a 6,2±0,1mmol/L de lactato sanguíneo no grupo-controle (n=10), enquanto o grupo desnutrido (n=10) teve a TM obtida na carga de 4,9±0,2% do peso corporal a 4,2±0,4 mmol/L de lactato sanguíneo.

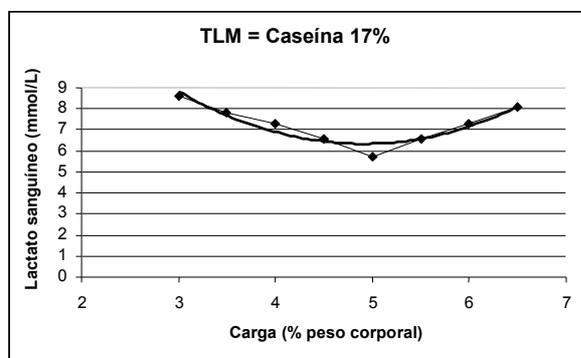


Figura 1 - Curva lactato sanguíneo vs carga de trabalho durante teste do lactato mínimo de um rato no estado normal. A curva foi obtida por ajuste polinomial de 2º grau, com auxílio de programa de computador (EXCEL®). A equação a seguir, que definiu a curva, possibilitou o cálculo do menor valor da concentração de lactato sanguíneo (LS) e respectivas cargas de trabalho (peso corporal – pc): $y = 0,1714x^2 - 1,65x + 10,304$ (4,8% do pc à 6,3 mmol/L de LS). Esse menor valor de lactato sanguíneo indicou a carga de trabalho equivalente à TM.

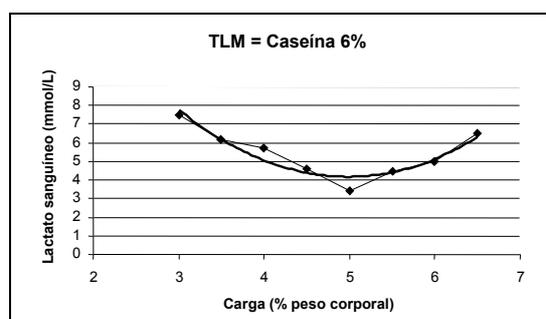


Figura 2 - Curva lactato sanguíneo vs carga de trabalho durante teste do lactato mínimo

de um rato no estado desnutrido. A curva foi obtida por ajuste polinomial de 2º grau, com auxílio de programa de computador (EXCEL®). A equação a seguir, que definiu a curva, possibilitou o cálculo do menor valor da concentração de lactato sanguíneo (LS) e respectivas cargas de trabalho (peso corporal – pc): $y = 0,2298x^2 - 2,2798x + 9,825$ (4,9% do pc à 4,2 mmol/L de LS). Esse menor valor de lactato sanguíneo indicou a carga de trabalho equivalente à TM.

DISCUSSÃO

A deficiência protéica ainda é prevalente e pode aumentar a incidência e conseqüente instalação do *kwashiorkor* (BATISTA FILHO; RISSIN, 2003). Por essa razão, no presente estudo, nós avaliamos a transição metabólica durante exercício de natação em um modelo animal de desnutrição bem caracterizado (LATORRACA et al., 1998; LATORRACA et al., 1999; MELLO et al., 2003; ALMEIDA; MELLO, 2004). Baixos ganhos de peso e comprimento corporais, hipoalbuminemia, hipoproteinemia e elevado conteúdo de lipídio no fígado, como observado em nossos animais (Tabela 1) mantidos com a dieta hipoprotéica, são sinais comumente encontrados (quadro semelhante) no *kwashiorkor* infantil (TORUN; CHEW, 1994) e em animais desnutridos experimentalmente (ALMEIDA; MELLO, 2004). Esses resultados indicam a adequação do modelo animal de desnutrição protéica utilizado no presente estudo. Como não houve diferença significativa na ingestão alimentar por grama de peso corporal entre os ratos alimentados com as dietas normoprotéica e hipoprotéica, o modelo, então, representa deficiência protéica e não-deficiência protéico-energética.

A concentração sérica de AGL apresentada pelos ratos desnutridos do presente estudo foi significativamente menor em relação aos animais alimentados com a dieta normoprotéica (Tabela 1), confirmando resultados prévios da literatura (ALMEIDA; MELLO, 2004). Estudos usando modelo experimental mostraram que a 6-desaturase, uma enzima-chave na síntese dos ácidos graxos essenciais, aparece inibida na

situação de jejum e nas deficiências de insulina, proteína e zinco, condições freqüentemente observadas em crianças desnutridas (GOLDEN, M.; GOLDEN, B., 1981).

Em relação ao conteúdo de lipídio no fígado, houve um aumento significativo nos ratos desnutridos quando comparados ao grupo-controle. Tal achado confirma estudos prévios (MELLO, 1985; ALMEIDA; MELLO, 2004) e ocorre como conseqüência do transporte deficiente de lipídios para fora do fígado em organismos acometidos pela deficiência protéica (COWARD; WHITEHEAD, 1972).

Por razões óbvias, tem sido conduzido um número significativo de estudos envolvendo exercício e nutrição em animais de laboratório, principalmente em ratos, e a concentração de lactato sangüíneo, visando à determinação de intensidades de esforço.

Hoje, as mensurações referentes à TM (isto é, limiars) são muito utilizadas no sentido de avaliar o nível de *performance* de atletas, assumindo que quanto mais alto o limiar, mais alta a capacidade aeróbia do indivíduo. Determinações da TM têm provado ser também de grande valor em estudos clínicos utilizando modelos animais, tais como os de diabetes *mellitus*, da obesidade e da desnutrição (MELLO; LUCIANO, 2000).

Em um estudo prévio, a TM de ratos normais e sedentários foi obtida pelo nosso grupo de pesquisa (VOLTARELLI et al., 2002), durante o TLM, na carga média calculada de $4,9 \pm 0,1\%$ do peso corporal dos animais a $7,2 \pm 0,2$ mmol/L de concentração média de lactato sangüíneo. A carga de exercício e a concentração de lactato sangüíneo calculados, equivalentes à TM, observados no rato alimentado com a dieta normoprotéica do presente estudo (Figura 1), foram similares aos valores obtidos anteriormente por nós (VOLTARELLI et al., 2002). Em relação ao rato desnutrido, pôde-se observar que a carga de trabalho equivalente à TM obtida através do TLM foi similar (figura 2) à do controle (figura 1) e àquela observada em nosso estudo prévio (VOLTARELLI et al., 2002). Por outro lado, a concentração de lactato sangüíneo correspondente à TM foi menor no animal alimentado com a dieta hipoprotéica (Figura 2), se comparado ao animal-controle (figura 1). A

mesma diferença entre o animal-controle e o desnutrido ocorre quando os valores médios de ambos os grupos são considerados.

Alteração similar na cinética de lactato sangüíneo em ratos desnutridos (deficiência protéica) foi reportada em estudo recente (PAPOTI et al., 2003). Esse estudo utilizou a máxima fase estável de lactato (MFEL) como meio de determinação da transição metabólica aeróbio/anaeróbio em ratos durante exercício de natação. A MFEL foi obtida, em ratos normais e em ratos alimentados com a dieta hipoprotéica, na mesma intensidade de esforço (5,5% do peso corporal); no entanto, houve diferença significativa na concentração de lactato sangüíneo equivalente à intensidade da MFEL (ratos controle: 5,5 mmol/L de lactato sangüíneo; ratos acometidos pela desnutrição protéica: 4,7 mmol/L de lactato sangüíneo).

Os valores mais baixos de lactato sangüíneo observados nos animais alimentados com a dieta hipoprotéica em relação aos animais-controle (alimentados com a dieta normoprotéica) para uma mesma carga de exercício podem ser atribuídos, pelo menos em parte, às alterações em atividades enzimáticas. Existem dados na literatura indicando redução da atividade de várias enzimas teciduais em organismos submetidos a restrição protéica (PENNEY et al., 1976; NGUYEN; KEAST, 1991; TORUN; CHEW, 1994; SANTOS et al., 1997). Com isso, uma alteração enzimática causada pela desnutrição protéica poderia acarretar inibição da via glicolítica, modificando assim a concentração de lactato sangüíneo durante o exercício.

Santos et al. (1997) determinaram a atividade das enzimas glicolíticas (hexoquinase, fosfofrutoquinase, aldolase, fosfoexoseisomerase, piruvato quinase e lactato desidrogenase) e de uma enzima glutaminolítica (glutaminase fosfato-dependente) no timo e em nodos linfáticos mesentéricos de ratos *wistar* submetidos a desnutrição protéica (6% de proteína da dieta), da concepção até 12 semanas após o nascimento. A atividade da glutaminase não foi afetada pela desnutrição protéica, mas a atividade das enzimas glicolíticas do timo e dos nodos linfáticos foi reduzida pela metade nos ratos desnutridos, quando comparados aos animais-controle. Em um estudo empírico prévio, Penney et al. (1976) observaram que a atividade da enzima lactato desidrogenase,

determinada tanto por eletroforese como por espectrofotometria, foi obtida em valores significativamente menores na musculatura esquelética de ratos desnutridos. Após cinco semanas de recuperação nutricional, os animais previamente desnutridos mostraram um grande aumento na atividade desta enzima glicolítica. Além disso, as atividades máximas da hexoquinase, 6-fosfofrutoquinase, lactato desidrogenase, citrato sintase e glutaminase, as quais proporcionam índices quantitativos de fluxo em várias vias importantes, foram mensuradas nas peles de camundongos Balb/c (presença congênita de pelo sob a pele) e Balb/c [nu/nu] (ausência congênita de pelo sob a pele) submetidos a dietas normais e de estresse do ponto de vista nutricional e metabólico (NGUYEN; KEAST, 1991). Esses autores observaram que a atividade de todas as enzimas associadas com o metabolismo energético, na pele dos animais de ambos os grupos, foi suprimida quando estes foram alimentados com uma dieta deficiente em componentes protéicos. Não obstante, para a confirmação dessa hipótese, seria necessário mensurar, principalmente, a atividade da enzima LDH nesses animais.

CONCLUSÃO

- Foi possível determinar a transição metabólica aeróbio/anaeróbio em ratos

desnutridos através do teste do lactato mínimo durante exercício de natação.

- Os animais desnutridos apresentaram concentração de lactato sanguíneo equivalente à transição metabólica obtida durante o teste do lactato mínimo e mais baixa em relação aos animais-controle para uma mesma carga de exercício, indicando que a restrição protéica altera a cinética de lactato sanguíneo durante a natação em ratos.
- Mais estudos são necessários para identificar, com maior riqueza de informações: a) as causas reais da diminuição da concentração de lactato sanguíneo, durante a realização do exercício físico, verificada nos animais submetidos a desnutrição protéica e b) por que a ausência de diferenças significantes entre ratos alimentados com dietas pobres em proteína e ratos-controle, no que diz respeito à carga de ocorrência da TM determinada pelo teste do lactato mínimo, comumente ocorre em estudos dessa natureza.

DETERMINATION OF METABOLIC TRANSITION BY LACTATE MINIMUM TEST IN MALNOURISHED RATS DURING SWIMMING EXERCISE

ABSTRACT

This study's aim was to determine the metabolic transition (MT) by the lactate minimum test (LMT) in sedentary malnourished rats. Young male Wistar rats were separated into two groups, for 16 weeks: Casein 17% (Control; from 30 to 150 days of age); Casein 6% (Malnourished; from 30 to 150 days of age). It was evaluated: a) blood FFA, albumin and total protein concentrations; b) liver lipids concentrations and c) body weight and body length. For determination of MT was the LMT was used. The data were analyzed by Student's unpaired t-test ($P < 0.05$). The malnourished rats showed hypoalbuminemia, hypoproteinemia and low body weight, which are malnutrition signs. The malnourished rats had blood lactate concentration at MT lower in relation to control animals but same exercise workload.

Key words: Lactate minimum test. Rats. Protein malnutrition.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, P. B. L.; MELLO, M. A. R. Desnutrição protéica fetal/neonatal, ação da insulina e homeostase glicêmica na vida adulta: efeitos do jejum e do exercício agudo. **Revista Brasileira de Educação Física**, Brasília, DF, v. 18, n. 1, p. 17-30, 2004.

BATISTA FILHO, M.; RISSIN, A. A transição nutricional no Brasil: tendências regionais e temporais. **Caderno de**

Saúde Pública, Rio de Janeiro, v.19, n.1, p. 5181-5191, 2003.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Pesquisa nacional sobre demografia e saúde 1996: relatório preliminar**. Brasília, DF, 1996.

COWARD, W. A.; WHITEHEAD, R.G. Changes in serum b-lipoprotein concentration during the development of kwashiorkor and in recovery. **British Journal of Nutrition**, Wallingford, v .27, p. 383-389, 1972

- DÂMASO, A. **Nutrição e exercício na prevenção de doenças**. Rio de Janeiro: Medsi, 2001.
- ENGELS, R.C.; JONES, J. B. Causes and elimination of erratic blanc in enzymatic metabolic assays involving the use of NAD in alkaline hydrazine buffers: improved conditions for assay of L-glutamate, L-lactate and other metabolites. **Analytical Biochemistry**, Orlando, v. 88, p. 475-484, 1978.
- GOLDEN, M.H. N.; GOLDEN, B. E. Effect of zinc supplementation on the dietary intake, rate of weight gain, and energy cost of tissue deposition in children recovering from sever malnutrition. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 34, p. 900-908, 1981.
- LATORRACA, M. Q. et al. Reduced insulin secretion in response to nutrients in islets from malnourished young rats is associated with diminished calcium uptake. **J. Nutr. Biochem.**, New York, v.10, p. 37-43, 1999.
- LATORRACA, M.Q. et al. Protein deficiency and nutritional recovery modulate insulin secretion and early steps on insulin action in rats. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 128, p. 1643-1649, 1998.
- MELLO, M. A. R. **Desnutrição protéico-calórica, gravidez e desenvolvimento materno: estudo comparativo de alterações corporais e metabólicas em ratos jovens e adultas**. 1985. Tese (Doutorado)—Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1985.
- MELLO, M. A. R. et al. Glucose homeostasis in pregnant rats submitted to protein restriction. **Research communications in molecular pathology and pharmacology**, Westbury, v.113/114, p. 229-248, 2003.
- MELLO, M.A.R.; LUCIANO, E. Efeitos bioquímicos da ingestão de carboidrato líquido durante o exercício aeróbio em ratos recuperados de desnutrição. **Revista Paranaense de Educação Física**, Curitiba, v.1, n. 2, p. 7-14, 2000.
- NGUYEN, T. D.; KEAST, D. The effects of diet on the maximal activities of glutaminase, citrate synthase, hexokinase, 6-phosphofructokinase and lactate dehydrogenase in the skin of haired and hairless mice of various age. **International journal of biochemistry**, Oxford, v. 23, no. 3, p. 365-369, 1991.
- NOGUEIRA, D. M. et al. **Métodos de bioquímica clínica**. São Paulo: Pancas Editorial, 1990.
- PAPOTI, M. et al. Máxima fase estável de lactato durante a natação em ratos recuperados de desnutrição protéica. **Motriz: Revista de Educação Física**, Rio Claro, v. 9, n. 2, p. 97-103, 2003.
- PENNEY, D.; ANDERSON, D.; DONGAS, J. Effects of early severe malnutrition on heart and skeletal muscle lactate dehydrogenase. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 106, no. 9, p. 1235-1240, 1976.
- REEVES, P. G. et al. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition AdHoc Writing Committee on the Reformulation of AIN-76A. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 123, p. 1938-1951, 1993.
- SANTOS, M. A et al. Effect of protein malnutrition on the glycolytic and glutaminolytic enzyme activity of rat thymus and mesenteric lymph nodes. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, São Paulo, v. 30, n. 6, p. 719-722, 1997.
- TEGTBUR, U. et al. Estimation of individual equilibrium between production and catabolism during exercise. **Medicine and science in sports and exercise**, Hagerstown, v. 25, no. 5, p. 620-627, 1993.
- TORUN, B.; CHEW, F. Protein energy malnutrition. In: SHILS, M.; OLSON, J. A.; SHIKE, M. (Ed.). **Modern nutrition in health and disease**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1994. p. 950-976.
- VOLTARELLI, F. A. et al. Determination of anaerobic threshold in rats using the lactate minimum test. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, São Paulo, v. 35, p. 1389-1394. 2002.

Recebido em 23/03/07
Revisado em 25/05/07
Aceito em 05/06/07

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem o indispensável apoio dos técnicos do Laboratório de Biodinâmica do Departamento de Educação Física da Unesp Campus Rio Claro: Clarice Sibuya, Eduardo Custódio e José Roberto Rodrigues.

Endereço para correspondência: Fabrício Azevedo Voltarelli. Universidade Estadual Paulista–Unesp, Campus Rio Claro, Departamento de Educação Física, Av. 24-A, 1515, Bairro: Bela Vista, CEP 13506-900, Rio Claro-SP, Brasil. E-mail: faunesp8@yahoo.com.br