

## LIMIAR ANAERÓBIO EM CORRIDA E NATAÇÃO PARA RATOS: DETERMINAÇÃO UTILIZANDO DOIS MÉTODOS MATEMÁTICOS

### ANAEROBIC THRESHOLD IN RUNNING AND SWIMMING RATS: DETERMINATION USING TWO MATHEMATICAL METHODS

Fúlvia de Barros Manchado-Gobatto\*  
Claudio Alexandre Gobatto\*\*  
Carla Ribeiro\*\*\*  
Clécia Soares de Alencar Mota\*\*\*\*  
Gustavo Gomes de Araujo\*\*\*  
Michel Barbosa de Araújo\*\*  
Maria Alice Rostom de Mello\*\*

#### RESUMO

O estudo objetivou determinar o limiar anaeróbio (LAn) em teste progressivo de natação e corrida para ratos, por dois métodos matemáticos: concentração fixa de lactato e bissegmentação da curva lactacidêmica. Foram avaliados 19 ratos nadadores e 29 corredores, submetidos a protocolos progressivos com estágios de 5 minutos e coletas de sangue ao final dos estágios. O LAn foi obtido por dois métodos: ajuste exponencial e determinação por concentração fixa de lactato (4,0; 4,5, 5,0 e 5,5mmol/L) e inspeção visual da inflexão da curva lactacidêmica, seguida por bissegmentação das retas de regressão. As intensidades obtidas foram comparadas por ANOVA *one-way* ( $P < 0,05$ ). Para natação, curvas lactacidêmicas não foram satisfatórias, sendo a melhor análise executada por concentração fixa de lactato a 5,5mmol/L (carga  $4,2 \pm 0,1\%$ pc). A bissegmentação foi possível com 67,2% dos ratos corredores ( $LAn = 21,1 \pm 0,9$ m/min), o que sugere ser esse método mais adequado para determinação do LAn de ratos nesse exercício.

**Palavras-chave:** Teste progressivo. Limiar anaeróbio. Ratos.

#### INTRODUÇÃO

A utilização de testes com intensidades progressivas e verificação de respostas fisiológicas nessas intensidades para determinar a máxima intensidade de esforço com característica predominantemente aeróbia é muito frequente na fisiologia do exercício. Dentre as variáveis mais utilizadas para essa análise é possível destacar a ventilação pulmonar (BODNER et al., 2002; WASSERMAN et al., 1964), a frequência cardíaca (CONCONI et al., 1982; DUMKE et al., 2006; DEBRAY; DEY, 2007) e a

lactacidemia sanguínea (KINDERMANN et al., 1979; SJÖDIN; JACOBS, 1981).

Nesse sentido, diversos são os estudos que determinaram a intensidade equivalente ao limiar anaeróbio (LAn) em humanos com a aplicação de protocolo progressivo e análise da lactacidemia sanguínea (MADER; HECK, 1986; WELTMAN et al., 1990; CARTER et al., 1999; FORSYTH; REILLY, 2004).

Uma maneira de analisar as respostas de lactato sanguíneo em teste progressivo é a observação do ponto de inflexão da curva lactacidêmica a partir do qual há um aumento desproporcional entre a produção e remoção

\* Professora Doutora da Universidade Metodista de Piracicaba–UNIMEP–Piracicaba–SP, Brasil.

\*\* Professor Prof. Livre Docente da Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP, Departamento de Ciências do Esporte, Campinas – SP, Brasil.

\*\*\* Doutorando do curso de Pós-Graduação em Ciências da Motricidade da Universidade Estadual Paulista–UNESP, Departamento de Educação Física, Rio Claro–SP, Brasil.

\*\*\*\* Mestre pelo Programa Pós-Graduação em Ciências da Motricidade da Universidade Estadual Paulista–UNESP.

desse metabólito. Esse método é identificado por inspeção visual executada por avaliadores experientes. Ultimamente pesquisadores vêm utilizando essa análise, precedida por bissegmentação das retas de regressão, como proposto por Hinckley (1969). A partir da bissegmentação é possível encontrar o ponto de intersecção entre as duas retas ajustadas, interpretado como intensidade individual de LAn. Para execução desse método são necessários ao menos quatro estágios completos em um teste progressivo, com o lactato sanguíneo apresentando resposta bem característica da esperada em um teste incremental.

Segundo Sjdin e Jacobs (1981) e Mader e Heck (1986), o LAn pode também ser determinado por concentração fixa de lactato sanguíneo. De acordo como os autores, 4mmol/L parece ser a concentração associada à intensidade de LAn em corrida na qual a produção de lactato é equivalente à sua remoção. Dessa maneira, sugeriram o método também conhecido por *onset blood lactate accumulation* (OBLA). A utilização de concentração fixa de lactato para análise do LAn, porém, necessita de cautela, pois é possível a variação dessa concentração de acordo com o ergômetro utilizado (BENEKE, 2003; PEREIRA et al., 2002; MANCHADO et al., 2006B). Essa afirmação pode ser explicada pela variação de concentração de lactato associada à máxima fase estável desse metabólito (MFEL) em teste contínuo executado em distintos exercícios (HECK et al., 1985; BENEKE, 2003; BILLAT et al., 2003).

Um dos recursos adotados com frequência por áreas que estudam ou utilizam o exercício na prevenção ou controle de patologias é o modelo animal, especialmente com mamíferos de pequeno porte. Os ratos, por exemplo, são comumente submetidos a esforços crônicos ou agudos em diversos ergômetros, sendo posteriormente analisados de maneira invasiva ou não, para detecção dos efeitos positivos e/ou deletérios promovidos pela atividade física (PAULI et al., 2005; BRAGA et al., 2006).

Assim como em humanos, não existe a possibilidade de avaliação dos resultados promovidos pelo esforço físico aplicado a ratos caso a intensidade, volume e frequência do

exercício não sejam controlados de maneira detalhada. Nesse sentido, diversas pesquisas expressivas têm objetivado padronizar protocolos para avaliação física de roedores exercitados em natação (GOBATTO et al., 2001; VOLTARELLI et al., 2002; MANCHADO et al., 2006a; ARAUJO et al., 2007; CHIMIN et al., 2008) e corrida em esteira rolante (BILLAT et al., 2005; FERREIRA et al., 2007; MANCHADO et al., 2005).

Devido à necessidade de apenas um dia de teste para determinação do LAn, alguns estudos adaptaram o teste progressivo, inicialmente sugerido para humanos, à avaliação aeróbia de ratos corredores (PILIS et al., 1993; LANGFORT et al., 1996; CARVALHO et al., 2005). Em natação, poucos trabalhos com essa metodologia são encontrados e a curva lactacidêmica em teste incremental nesse tipo de exercício parece não revelar comportamento similar ao observado em humanos (GOBATTO et al., 1991).

Devido à importância da avaliação de ratos exercitados e à grande expressão de protocolos com incrementos de intensidade aplicados a humanos, o objetivo do presente estudo foi verificar a possibilidade de determinar o limiar anaeróbio em teste progressivo de natação e corrida para ratos Wistar, com a utilização de dois métodos matemáticos de análise: concentração fixa de lactato e bissegmentação da curva lactacidêmica.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Animais

Foram utilizados 48 ratos da linhagem Wistar, com 90 dias de idade e peso de  $425 \pm 29$ g. 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*. Todos os experimentos seguiram as resoluções brasileiras específicas de bioética de pesquisa com animais (Lei n. 6.638, de 8 de março de 1979, e Decreto n. 645, de 10 de julho de 1945).

### Protocolo experimental

Inicialmente os animais foram separados, selecionados e adaptados aos respectivos ergômetros nos quais posteriormente seriam avaliados.

### Adaptação ao meio líquido

Dezenove animais foram submetidos ao teste progressivo para determinação do limiar anaeróbio em 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 (MARANGON et al., 2002), com a temperatura da água mantida a  $31\pm 1^{\circ}\text{C}$  (HARRI; KUUSELA, 1986). O propósito da adaptação foi reduzir o estresse do animal sem promover adaptações fisiológicas eventualmente decorrentes do treinamento físico.

Os ratos foram mergulhados em água rasa por três dias durante quinze 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 décimo primeiro 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, até que, no décimo quinto dia, encerrou-se a adaptação.

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

Para a execução do protocolo progressivo em esteira rolante houve a necessidade de seleção prévia dos animais corredores. A seleção ocorreu em um período de sete dias, nos quais foram escolhidos os 29 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) e durações (5 a 15min) progressivas. O objetivo da adaptação também foi reduzir os

níveis de estresses apresentados pelo animal pelo fato de a tarefa ser conhecida sem promoção do treinamento físico.

### Protocolo progressivo para determinação do limiar anaeróbio

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

Em ambos os exercícios o protocolo para a determinação do limiar anaeróbio foi composto por um teste de incremento de cargas com estágio de 5 minutos. Houve coleta de sangue da cauda dos ratos no início dos testes e ao final de cada estágio completo, para posterior determinação da curva lactacidêmica. Esse procedimento foi realizado até a exaustão voluntária dos ratos. As intensidades impostas aos animais e os critérios de exaustão adotados nos dois distintos ergômetros serão descritos a seguir.

### Protocolo progressivo em natação

Os ratos foram submetidos individualmente ao protocolo progressivo, suportando cargas equivalentes a 3,5; 4,0; 4,5; 5,0, 5,5; 6,0% do peso corporal (pc), atadas ao dorso. Os animais realizaram esforços em tanque profundo e o critério de exaustão adotado foi a não manutenção do nado em superfície e a perda dos movimentos simétricos responsáveis pelo deslocamento do rato ao fundo do tanque. Para análise, foram considerados estágios completos.

### Protocolo progressivo em esteira rolante

No protocolo realizado em esteira rolante, o aumento da intensidade foi executado por modificações na velocidade imposta para a corrida. As velocidades utilizadas nesse teste foram 10, 15, 20, 25, 30 e 35 m/min. A esteira rolante utilizada foi composta por oito baias individuais, com o dispositivo de choque elétrico desligado, para reduzir o efeito do estresse na realização do esforço pelo animal. O critério de exaustão adotado na avaliação realizada nesse ergômetro foi a não manutenção da corrida na velocidade proposta por 5 segundos. Do mesmo modo que na natação, foram considerados válidos para as análises

efetuadas apenas os estágios concluídos com sucesso.

#### Extração de amostras sanguíneas e análise

Durante os testes progressivos, amostras sanguíneas (25µl) foram extraídas da cauda dos animais 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 secados, 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).

#### Análises matemáticas para obtenção do limiar anaeróbio nos dois ergômetros utilizados

Para obter a intensidade de limiar anaeróbio para ratos exercitados em diferentes ergômetros foram utilizados dois métodos matemáticos distintos: determinação do limiar anaeróbio por concentração fixa de lactato, método também denominado OBLA (33), e análise da curva lactacidêmica por bissegmentação das retas de regressão (HINKLEY, 1969).

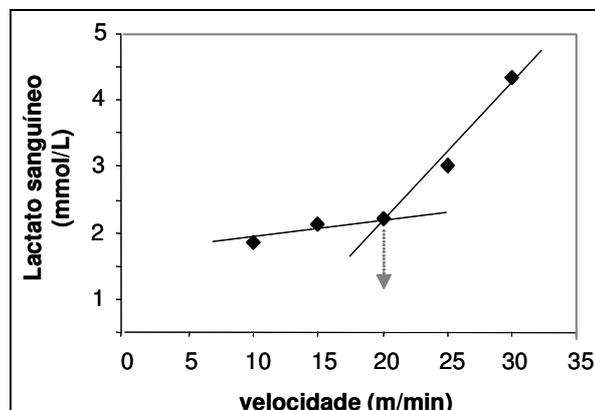
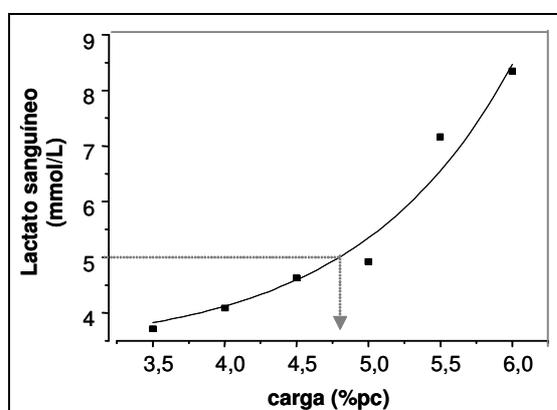
#### Método de obtenção do LAN por concentração fixa de lactato

Assim como inicialmente proposto para avaliação humana (SJÖDIN; JACOBS, 1981),

optamos por tentar determinar o LAN de ratos submetidos a exercício progressivo em natação e corrida em esteira rolante. Para isso foram plotados gráficos individuais de lactacidemia sanguínea vs. intensidade de exercício. Os pontos obtidos foram submetidos ao ajuste exponencial de crescimento (segunda ordem), para possível determinação da intensidade associada à concentração fixa de lactato. Tanto em natação como em corrida foram obtidas as intensidades equivalentes às concentrações de lactato 4,0; 4,5, 5,0 e 5,0mmol/L (Figura 1.a).

#### Método de bissegmentação das retas de regressão

Para determinação do LAN pelo método de bissegmentação das retas de regressão, os dados lactacidêmicos foram também plotados em gráficos individuais (lactato vs. intensidade de exercício). Por meio de inspeção visual executada por dois avaliadores com experiência nessa análise foi identificado o ponto de inflexão da curva lactacidêmica, o qual foi interpretado como instante no qual as respostas de lactato apresentaram aumento exponencial em relação à intensidade de exercício. A partir da visualização desse ponto de inflexão, a curva de lactato foi seccionada em duas distintas retas (Figura 1b). Posteriormente, foram igualadas as equações das duas retas e determinou-se o ponto de intersecção entre elas. De acordo com esse método, o ponto de intersecção obtido revela a intensidade equivalente ao limiar anaeróbio (LAN).



**Figura 1 - a.** Representação gráfica da análise de limiar anaeróbio por concentração fixa de lactato para um rato submetido ao teste em natação. **b.** análise matemática do limiar anaeróbio por bissegmentação das retas de regressão em rato corredor.

### Análise estatística

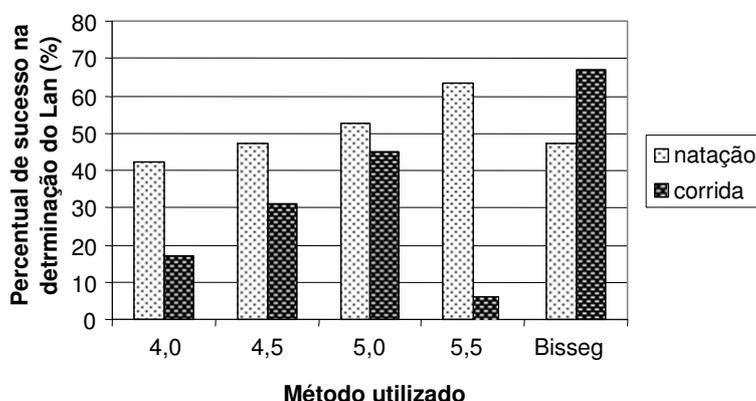
A análise dos dados foi possível com o auxílio dos pacotes estatísticos *Origin 6.0 e Statística 5.0*. Inicialmente foi utilizada análise descritiva para apresentação de percentuais de sucesso nas análises matemáticas realizadas, assim como um teste de frequências para identificar o método capaz de identificar o LAn para uma maior quantidade de animais. Houve a aplicação de *Anova one-way*, com teste *post-hoc* Newman-Keuls, quando necessário, para comparar as intensidades equivalentes ao LAn obtidas pelos dois métodos matemáticos adotados. Em todos os procedimentos estatísticos o nível de significância foi prefixado

em  $P < 0,05$  (DAWSON-SAUNDERS; TRAPP, 1994).

### RESULTADOS

Os resultados foram expressos em média  $\pm$  erro padrão da média.

Na Figura 2 estão expressos os percentuais de sucesso na determinação do limiar anaeróbio através dos métodos matemáticos utilizados para os dois ergômetros, natação e corrida em esteira rolante, sendo os limiares definidos a partir de diferentes concentrações fixas de lactato ou pelo ajuste bissegmentado.



**Figura 2** - Percentuais de sucesso na determinação do limiar anaeróbio em natação e corrida em esteira rolante. No eixo x estão expressos os métodos matemáticos utilizados para a análise, sendo eles concentração fixa de lactato em valores equivalentes à 4,0; 4,5; 5,0; 5,5mmol/L e bissegmentação das retas de regressão.

A Tabela 1 apresenta os valores de intensidade de LAn determinados por todos os métodos utilizados, nos dois ergômetros. O

*Anova one-way* revelou distinção entre o método bissegmentado e as demais análises por concentração fixa, em ambos os ergômetros.

**Tabela 1** - Resultados de limiar anaeróbio determinados pelas distintas formas de análise utilizadas (concentrações fixas ou bissegmentação), em dois ergômetros: natação e corrida em esteira rolante. Os parâmetros apresentados são a intensidade do exercício equivalente ao LAn, o número de ratos que apresentaram tal possibilidade de análise (n) e o valor de  $R^2$  para o ajuste exponencial de crescimento (concentrações fixas de lactato).

		Método de análise					
		4,0	4,5	5,0	5,5	$R^2$	bisseg
natação	Carga (%pc)	3,8	4,0	4,1	4,2	0,90	4,6 *
	sem	0,1	0,0	0,1	0,1	0,30	0,3
	n	8	9	10	12	19	9
corrida	Velocidade (m/min)	26,7	28,0	26,9	27,1	0,84	21,1 *
	sem	2,9	2,0	1,6	0,8	0,50	0,9
	n	13	9	5	2	29	18

Resultados expressos em média  $\pm$  erro padrão da média. \* diferença significante entre método de bissegmentação e todos os outros valores obtidos por concentração fixa de lactato ( $P < 0,05$ ).

## DISCUSSÃO

A utilização de testes progressivos objetivando a identificação do limiar anaeróbio é muito frequente em pesquisas aplicadas a humanos. Um dos motivos pelos quais esse protocolo é comum está relacionado à possibilidade de obtenção do LAn com apenas uma sessão de teste. Entre as respostas fisiológicas comumente adotadas para avaliação é possível destacar a lactacidemia, a partir da qual é possível determinar matematicamente o LAn em teste incremental por dois distintos métodos: concentração fixa de lactato ou inspeção visual para detecção do ponto de inflexão da curva desse metabólito. Esse segundo procedimento pode ser precedido por análise de bissegmentação das retas de regressão. Ambos os métodos foram utilizados no presente estudo, para avaliação aeróbia de ratos submetidos aos testes progressivos executados em natação e corrida em esteira rolante (Figura 1).

Foram selecionadas a natação e a corrida para avaliação de ratos Wistar devido à grande aplicação desses exercícios em pesquisas na área da saúde. Protocolos progressivos similares já haviam sido relatados por Gobatto et al. (1991), em natação, e por Pilis et al. (1993) e Langfort et al. (1996) para avaliar ratos corredores; mas a maior justificativa para a origem do presente estudo foi a contradição relatada por esses autores nos distintos ergômetros. Em corrida, as respostas lactacidêmicas em teste de multiestágio apresentaram similaridade com as observadas em humanos submetidos a avaliação em igual exercício, com comportamento exponencial. Pilis et al. (1993) e Langfort et al. (1996) sugerem a utilização de tal procedimento quando se objetiva identificar a intensidade de transição entre predominância energética aeróbia e anaeróbia. Não obstante, Gobatto et al. (1991) relataram a impossibilidade de avaliação do LAn em teste progressivo executado em natação com ratos, pelo fato de respostas de lactato apresentarem-se lineares e não exponenciais durante o protocolo. Desse modo, identificamos a distinção entre respostas para esse tipo de avaliação em dois ergômetros, o que nos motivou a aplicar diversas formas de análise

aos resultados observados em testes progressivos realizados em esteira e natação.

Os percentuais de sucesso na determinação do LAn por concentração fixa de lactato e bissegmentação das retas de regressão estão expressos na figura 2. As concentrações fixas adotadas tanto para natação quanto para corrida foram 4,0; 4,5; 5,0 e 5,5mmol/L. Cabe ressaltar que a seleção dessas concentrações não foi aleatória, sendo baseada em valores obtidos por método de máxima fase estável de lactato sanguíneo nos dois exercícios adotados (GOBATTO et al., 2001; MANCHADO et al., 2005; CONTARTEZE et al., 2007; ARAUJO et al., 2009).

Em natação houve grande possibilidade de determinar o LAn pelo método de concentração fixa de lactato em 5,5mmol/L (63,2%), sucesso que foi precedido pela utilização do mesmo método, com concentração fixa de 5,0mmol/L (52,6%). Essas concentrações são similares às obtidas em protocolo de máxima fase estável de lactato para natação, considerado teste padrão ouro para avaliação aeróbia (GOBATTO et al., 2001; MANCHADO et al., 2006a; MANCHADO et al., 2006b). Em exercício de corrida foi evidente a dificuldade em obter o LAn por concentração fixa de lactato (melhor sucesso 44,8% de obtenção, para concentração fixa 4,0mmol/L), sendo o procedimento de inspeção visual e bissegmentação das retas de regressão, aparentemente mais indicado para determinação de tal intensidade, ao menos no aspecto do sucesso na identificação (62,1%).

Como sugerido por Gobatto et al. (1991), um baixo percentual de animais submetidos à avaliação incremental em natação apresentou curvas lactacidêmicas características, capazes de revelar um comportamento exponencial do lactato concomitantemente ao aumento progressivo da intensidade. Já ratos corredores, em concordância com os achados de Pilis et al. (1993) e Langfort et al. (1996), expressam de maneira mais evidente e em maior quantidade, curvas de lactato sanguíneo similares às obtidas em teste igual aplicado em humanos. No âmbito da especulação, sugerimos que um provável fator responsável pela distinção entre respostas lactacidêmicas progressivas em natação e corrida seja a vasoconstrição na cauda dos

animais. Em natação há um aumento progressivo do lactato nos estágios iniciais do teste, porém respostas desproporcionais elevadas não são observadas em intensidades superiores ao LAn, diferentemente do que é observado em corrida. Como as coletas de sangue são efetuadas pela extremidade distal da cauda do animal, é possível que em natação a vasoconstrição promovida por descarga adrenérgica supra LAn seja potencializada por associação ao estresse do animal submetido ao meio líquido, refletindo-se no aumento linear desse metabólito. Segundo Contarteze et al. (2007), em intensidades superiores à máxima fase estável de lactato, o estresse promovido pela natação supera o proporcionado pela corrida em esteira rolante, mesmo com ausência de choque elétrico.

Resultados interessantes podem ser observados na Tabela 1. Em ambos os ergômetros não foram encontradas distinções entre as intensidades de LAn obtidas por concentração fixa, independentemente do valor de lactato adotado (4,0; 4,5; 5,0; 5,5mmol/L). Nas análises efetuadas em natação, a carga equivalente ao LAn obtido por esse método variou de 3,8 a 4,2%pc. Esses valores são minimamente inferiores aos achados de Gobatto et al. (2001), Manchado et al. (2006a), Manchado et al. (2006b), Araujo et al. (2007), que determinaram a intensidade de transição aeróbia/anaeróbia avaliando ratos nadadores por outros protocolos.

Em esteira rolante, analisando-se isoladamente o LAn determinado por método de concentração fixa, também não foram observadas distinções entre as velocidades. Cabe ressaltar que os valores encontrados por esse método superestimam a intensidade do limiar em comparação à obtida por teste similar (PILIS et al., 1993) e por protocolo de máxima fase estável de lactato (MANCHADO et al., 2005).

Enfatizando a utilização do procedimento matemático de bissegmentação das retas de regressão, a ANOVA *one-way* revelou que, para os dois exercícios analisados, os valores de LAn foram diferentes dos observados para todas as concentrações fixas de lactato adotadas. Ratos nadadores apresentam carga de LAn por

bissegmentação aproximadamente 12% superior aos determinados por concentração fixa. Apesar da diferença estatística, o percentual da distinção é mínimo. O contrário pode ser verificado em corrida, haja vista que a faixa de distinção entre análise por bissegmentação e outros procedimentos foi, em média, 29,5%. Um importante aspecto a ser ressaltado é que, além do elevado percentual de sucesso na determinação, o método de bissegmentação aplicado a ratos corredores sugere a intensidade de LAn em  $21,1 \pm 0,9$ m. Manchado et al. (2005), Manchado et al. (2006a) e Contarteze et al. (2007) também relataram intensidade similar (20m/min) como sendo a máxima fase estável de lactato de ratos Wistar avaliados em corrida.

Assim como descrito para outras avaliações fisiológicas, é preciso ter cautela quando um teste progressivo é analisado, devido à protocolo-dependência, possível de ser visualizada também em nosso estudo. A grande importância da presente pesquisa encontra-se na sugestão de métodos matemáticos mais adequados para detecção de resultados fornecidos por teste incremental em cada um dos ergômetros utilizados.

De acordo com os resultados, não é possível, em teste progressivo aplicado a ratos exercitados em natação, obter curvas lactacidêmicas satisfatórias. Nesse ergômetro, a melhor análise para determinar o LAn deve ser executada por concentração fixa de lactato na faixa de 5,0 a 5,5mmol/L. Já em corrida, a inspeção visual associada à bissegmentação das retas de regressão parece ser o método mais adequado para determinação do LAn de ratos Wistar.

#### 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 (Procs. 300270/2004-16, 301601/2006-2). Agradecemos o apoio técnico de José Roberto Rodrigues da Silva, Eduardo Custódio e Clarice Yoshiko Sibuya.

## ANAEROBIC THRESHOLD IN RUNNING AND SWIMMING RATS: DETERMINATION USING TWO MATHEMATICAL METHODS

### ABSTRACT

The study aimed to determine the anaerobic threshold (AT) with incremental test in swimming and running rats, using two mathematical methods for analysis: fixed blood lactate concentration and visual inspection of inflection point preceded by bi-segmental linear regression. Swimming (n=19) and running rats (n=29) were used. The incremental test was composed by 5 minutes of exercise with blood collection after loads for lactate concentration determination. The AT was determined by fixed lactate concentration (4.0; 4.5;5.0; 5.0mmol/L) and the visual inspection of inflection point of the lactate curve, preceded by intersection of the bi-segmental linear regression. The AT intensities were compared by one-way Anova. In swimming rats the best analysis for AT determination seems to be fixed blood lactate in concentrations (5.0 and 5.5mmol/L, load=4.2±0.1%bw). In treadmill running, the bi-segmental linear regression was possible with 67.2% of animals (AT=21.1±0.9 m/min) and this method seems to be the adequate for running rats.

**Keywords:** Incremental test. Anaerobic threshold. Rats.

### REFERÊNCIAS

- ARAUJO, G. G.; PAPOTI, M.; MANCHADO, F. B.; MELLO, M. A. R.; GOBATTO, C. A. Protocols for hyperlactatemia induction in the lactate minimum test adapted to swimming rats. **Comparative Biochemistry Physiology: Part A**, Vancouver, v. 148, p. 888-892, 2007.
- ARAUJO, M. B.; VOLTARELLI, F. A.; CONTARTEZE, R. V. L.; MANCHADO-GOBATTO, F. B.; MELLO, M. A. R. Oxidative stress in rats exercised by at different intensities. **Journal of Chinese Clinical Medicine**, Hong Kong, v. 4, p.11-18, 2009.
- BENEKE, R. Maximal lactate steady state concentration (MLSS): experimental and modelling approaches **European Journal of Applied Physiology**, Berlin, v.88, p.361-369, 2003.
- BENEKE, R. Methodological aspects of maximal lactate steady state-implications for performance testing. **European Journal of Applied Physiology**, Berlin, v. 89, p. 95-99, 1995.
- BENTLEY, D. J.; MCNAUGHTON, L. R. Circadian rhythms in blood lactate concentration during incremental ergometer rowing. **European Journal of Applied Physiology**, Berlin, v. 92, p. 69-74, 2004.
- BILLAT, V. L.; MOUISEL, E.; ROBLLOT, N.; MELKI, J. Inter- and intra-strain variation in mouse critical running speed. **Journal of Applied Physiology**, Bathesda v. 98, p.1258-1263, 2005.
- BILLAT, V. L.; SIVERENT, P.; PY, G.; KORALLSZTEIN, J. P.; Mercier, J. The concept of maximal lactate steady state: a bridge between biochemistry, physiology and sport science. **Sports Medicine**, Auckland, v. 33, p. 407-426, 2003.
- BODNER, M. E.; RHODES, E. C.; MARTIN, A. D.; COUTS, K. D. The relationship of the heart rate deflection point to the ventilatory threshold in trained cyclists. **Journal of Strength Conditioning Research**, Lincoln, v.16, p. 573-580, 2002.
- BRAGA, L. R.; MANCHADO, F. B.; MELLO, M. A. R.; GOBATTO, C. A. Exercício contínuo e intermitente: Efeitos do treinamento e do destreinamento sobre peso corporal e metabolismo muscular de ratos obesos. **Revista Portuguesa de Ciências do Desporto**, Porto, v. 6, p. 160-169, 2006.
- CARTER, H.; JONES, A.M.; DOUST, J. H. Effect of incremental test protocol on the lactate minimum speed. **Medicine and Science in Sports Exercise**, Baltimore, v.31, p.837-845, 1999.
- CARVALHO, J. F.; MASUDA, M. O.; POMPEU, F. A. Methods for diagnosis and control of aerobic training in rats based in lactate threshold. **Comparative Biochemistry Physiology: Part A**, Vancouver, v. 40, p. 409-413, 2005.
- CHIMIN, P.; ARAUJO, G. G.; MANCHADO-GOBATTO, F. B.; GOBATTO, C. A. Efeitos de doze semanas contínuas e com afastamento a um programa de treinamento de natação sobre as concentrações de glicose e AGL em ratos. **Revista da Educação Física/UEM**, Maringá, v. 19, p. 65-70, 2008
- CONCONI, F.; FERRARI, M.; ZIGLIO, P. G.; DROGHETTI, P.; CODECA, L. Determination of the anaerobic threshold by a noninvasive field test in runners. **Journal of Applied Physiology**, Bathesda, v. 52, p. 869-873, 1982.
- CONTARTEZE, R. V. L.; MANCHADO, F. B.; GOBATTO, C. A.; MELLO, M. A. R. Stress in rats submitted to swimming and treadmill running exercises. **Comparative Biochemistry Physiology: Part A**, Vancouver, v.147, p. 1-8, 2007.
- DAWSON-SAUNDERS, B.; TRAPP, R. G. **Basic and clinical biostatistic**. 2nd. East Norwalk: Appleton & Lange, 1994.
- DEBRAY, P.; DEY, S. K. A comparison of the point of deflection from linearity of heart rate and ventilatory threshold in the determination of the anaerobic threshold in Indian boys. **Journal of Physiology and Anthropology**, Tokyo, v. 26, p. 31-37, 2007.
- DUMKE, L.; BROCK, D. W.; HELMS, B. H.; HAFF, G. G. Heart rate and lactate threshold and cycling time trials. **Journal of Strength Conditioning Research**, Lincoln, v. 20, p. 601-607, 2006.
- FERREIRA, J. C. B.; ROLIM, N. P. L.; BATHOLOMEU, J. B.; GOBATTO, C. A.; KOKUBUN, E.; BRUM, P.C. Maximal lactate steady state in running mice: effects of exercise training. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, Victoria, v. 34, p. 760-765, 2007.

- FORSYTH, J. J.; REILLY, T. Circadian rhythms in blood lactate concentration during incremental ergometer rowing. **European Journal of Applied Physiology**, Berlin, v. 92, p. 69-74, 2004.
- GOBATTO, C. A.; KOKUBUN, E.; SIBUYA, C. Y.; MELLO, M. A. R. 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**, Campinas, SP, v. 43, p.725-726, 1991.
- 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 Physiology: Part A**, Vancouver, v. 21-27, 2001.
- HARRI, M.; KUUSELA, P. Is swimming exercise or cold expose for rats? **Acta Physiologica Scandinavia**, Stockholm, v. 126, p. 189-197, 1986.
- HECK, H.; MADER, A.; HESS, G.; MUCKE, S.; MULLER, R.; HOLLMANN, W. Justification of the 4-mmol/L lactate threshold. **International Journal of Sports Medicine**, Stuttgart, v. 6, p. 117-130, 1985.
- HINKLEY, D. V. Inference about the intersection in two-phase regression. **Biometrika**, London, v. 56, p. 495-504, 1969.
- KINDERMANN, W.; SIMON, G.; KEUL, J. The significance of the aerobic-anaerobic transition for the determination of work load intensities during endurance training. **European Journal of Applied Physiology**, Berlin, v. 42, p. 25-34, 1979.
- LANGFORT, J.; ZARZECZNY, R.; PILIS, W.; KACIUBA-USCILKO, H.; NAZAR, K.; PORTA, S. Effect of sustained hyperadrenalinemia on exercise performance and lactate threshold in rats. **Comparative Biochemistry Physiology: Part A**, Vancouver, v. 114, p.51-55, 1996.
- MADER, A.; HECK, H. A theory of metabolic origin of the anaerobic threshold. **International Journal of Sports Medicine**, Stuttgart, v. 7, p. 45-65, 1986.
- MANCHADO, F. B.; GOBATTO, C. A.; CONTARTEZE, R. V. L.; PAPOTI, M.; MELLO, M. A. R. Maximal lactate steady state in running rats. **Journal of Exercise Physiology Online**, Duluth, v. 8, p. 29-35, 2005.
- MANCHADO, F. B.; GOBATTO, C. A.; CONTARTEZE, R. V. L.; PAPOTI, M.; MELLO, M. A. R. Máxima fase estável é ergômetro-dependente em modelo experimental utilizando ratos. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, Rio de Janeiro, v. 12, p. 259-262, 2006a.
- MANCHADO, F. B.; GOBATTO, C. A.; VOLTARELLI, F. A.; MELLO, M. A. R. Non-exhaustive test for aerobic capacity determination in swimming rats. **Applied Physiology Nutrition and Metabolism**, Toronto, v. 31, p.731-736, 2006b.
- MARANGON, L.; GOBATTO, C. A.; MELLO, M. A. R.; Kokubun, E. Utilization of an hyperbolic model for the determination of the critical load in swimming rats. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, St. Louis, v. 34, p. 149, 2002. Supplement.
- PAULI, J. R.; LEME, J. A. C. A.; CRESPILO, D. M.; ROGATTO, G. P.; LUCIANO, E. Influence of physical training on hypothalamo-pituitary-adrenal axis parameters on rats administered with dexamethasone. **Revista Portuguesa de Ciências do Desporto**, Porto, v. 5, p. 143-152, 2005.
- PEREIRA, R. R.; ZAGATTO, A. M.; PAPOTI, M.; GOBATTO, C. A. Validação de dois protocolos de teste para determinação do limiar anaeróbio em natação. **Motriz**, Rio Claro, v. 8, p. 63-68, 2002.
- PILIS, W.; ZARZECZNY, R.; LANGFORT, J.; KACIUBA-USCILKO, H.; NAZAR, K.; WOJTYNA, J. Anaerobic threshold in rats. **Comparative Biochemistry Physiology: Part A**, Vancouver, v. 106, p. 285-289, 1993.
- SJÖDIN, B.; JACOBS, I. Onset of blood lactate accumulation and marathon running performance. **International Journal of Sports Medicine**, Stuttgart, v. 2, p. 23-26, 1981.
- VOLTARELLI, F. A.; GOBATTO, C. A.; MELLO, M. A. R. Determination of anaerobic threshold in rats using the lactate minimum test. **Brazilian Journal of Medical and Biology Research**, Ribeirão Preto, v. 35, p. 1-6, 2002.
- WASSERMAN, K.; MCILROY, M. B. Detecting the threshold of anaerobic metabolism in cardiac patients during exercise. **American Journal of Cardiology**, New York, v. 14, p. 844-852, 1964.
- WELTMAN, A.; SNEAD, D.; STEIM, P.; SEIP, R.; SCHURRER, R.; RUTT, R.; WELTMAN, J. Reliability and validity of a continuous incremental treadmill protocol for the determination of lactate threshold, fixed blood lactate concentrations and  $VO_{2max}$ . **International Journal of Sports Medicine**, Stuttgart, v. 11, p. 26-32, 1990.

Recebido em 13/07/09

Revisado em 02/02/10

Aceito em 20/03/10

**Endereço para correspondência:** Fúlvia de Barros Manchado-Gobatto. Av. 62-A, 332, Jd. América, CEP 13506-056, Rio Claro-SP, Brasil. E-mail: fbgobatt@unimep.br