

Condicionamento aeróbio e estresse oxidativo em ratos treinados por natação em intensidade equivalente ao limiar anaeróbio

Aerobic condition and oxidative stress in rats swim-trained at the anaerobic threshold intensity

Francisco José Andreotti Prada¹; Fabricio Azevedo Voltarelli²; Camila Aparecida Machado de Oliveira²; Cláudio Alexandre Gobatto²; Denise Vaz Macedo¹; Maria Alice Rostom de Mello²

Resumo

PRADA, F. J. A., VOLTARELLI, F. A., OLIVEIRA, C. A. M., GOBATTO, C. A., MACEDO, D. V., MELLO, M. A. R. Condicionamento aeróbio e estresse oxidativo em ratos treinados por natação em intensidade equivalente ao limiar anaeróbio. **R. bras. Ci e Mov.** 2004; 12(2): 29-34.

Poucos estudos associam variáveis metabólicas com a intensidade do esforço em ratos, especialmente durante exercício de natação. O presente estudo tem por objetivo analisar biomarcadores de condicionamento aeróbio e de estresse oxidativo em ratos treinados por natação na intensidade correspondente ao limiar anaeróbio (LAN). Métodos: Foram utilizados ratos adultos (90 dias) da linhagem Wistar, adaptados ao meio líquido. Primeiramente o LAN dos animais foi determinado pelo teste do lactato mínimo. Em seguida, os mesmos foram separados em 2 grupos. Controles (C) e Treinados (T = natação 1 hora/dia, 5 dias/semana, suportando sobrecarga de peso correspondente ao LAN). Após 4 semanas os animais de ambos os grupos foram submetidos a teste de esforço com carga fixa na intensidade equivalente ao LAN, para análise do lactato sanguíneo, visando inferir sobre o condicionamento aeróbio. Quarenta e oito horas depois, foram sacrificados, em repouso, para análise, no sangue, de biomarcadores de ataque oxidativo (produtos que reagem ao ácido tiobarbitúrico [TBARS]) e do sistema de defesa antioxidante (atividade das enzimas catalase [CAT] e glutatona redutase [GR]). Resultados: OLAN médio dos animais foi estimado na carga $4,99 \pm 0,22$ % do peso corporal à concentração interpolada de $7,28 \pm 0,19$ mmol/L de lactato sanguíneo. Durante o teste de esforço, a concentração de lactato sanguíneo foi menor (teste t, $p < 0,05$) nos ratos treinados do que nos controles. Os valores de TBARS foram maiores nos ratos Treinados que nos Controles. O inverso ocorreu com CAT e GR. Conclusões: O protocolo de treinamento utilizado mostrou-se eficaz em melhorar o condicionamento aeróbio dos animais, conforme indicam as baixas concentrações de lactato sanguíneo dos ratos treinados durante o teste de esforço. Por outro lado, não desencadeou adaptações favoráveis nas atividades das enzimas antioxidantes.

PALAVRAS-CHAVE: limiar anaeróbio, lactato, condicionamento aeróbio, estresse oxidativo.

Abstract

PRADA, F. J. A., VOLTARELLI, F. A., OLIVEIRA, C. A. M., GOBATTO, C. A., MACEDO, D. V., MELLO, M. A. R. Aerobic condition and oxidative stress in rats swim-trained at the anaerobic threshold intensity. **R. bras. Ci e Mov.** 2004; 12(2): 29-34.

There are few studies in the literature associating metabolic variables and effort intensity in rats, especially during swimming exercise. The present study was designed to analyze biomarkers of aerobic condition and oxidative stress in rats submitted to swimming training at the intensity equivalent to the anaerobic threshold (AT). Methods: Adult (90 days) male wistar rats, adapted to the water, were used. First, AT was determined by the lactate minimum test. Then, the animals were separated into 2 groups: Control (C) and Trained (T= swimming, 1 h/day, 5 days/week, supporting a load equivalent to the AT). After 4 weeks, the animals from both groups were submitted to an exercise test supporting a constant load equivalent to the AT for blood lactate determination, aiming evaluation of the aerobic condition. Forty eight hours later, they were sacrificed, at rest, for the analyze of biomarkers of oxidative damage (plasma thiobarbituric acid reactive substances [TBARS]) and of the antioxidant system (blood glutathione reductase [GR] and catalase [CAT] activities). Results: Mean AT was calculated at 4.97 ± 0.22 % of b.w. load at an estimated blood lactate concentration of 7.28 ± 0.19 mmol/L. Blood lactate during the exercise test were lower (t test, $p < 0.05$) in trained than in control rats, TBARS values were higher in trained than in control rats. The opposite occurred with CAT and GR activities. Conclusions: The training protocol used was efficient in improving the aerobic condition of the animals, as indicates the low blood lactate concentrations of the trained rats during the exercise test. On the other hand, exercise training did not induce positive adaptations in the antioxidant enzyme activities.

KEYWORDS: Anaerobic threshold, lactate, aerobic condition, oxidative stress.

¹ Labex, UNICAMP, Campinas.

² Departamento de Educação Física, UNESP, Rio Claro, SP – Brasil.

Recebido: 24/06/2003

Aceite: 16/12/2003

Introdução

Durante o metabolismo celular, a maior parte do oxigênio molecular sofre completa redução à água. Contudo uma pequena parte do O_2 é convertida a produtos parcialmente reduzidos como o radical ânion superóxido, peróxido de hidrogênio e radicais hidroxila. Essas espécies, radicalares ou não, são oxidantes potentes e podem causar danos teciduais, sendo coletivamente chamadas de espécies reativas de oxigênio (EROS) (7). Para se protegerem contra oxidações os organismos dispõem de mecanismos químicos e enzimáticos. No primeiro caso, várias moléculas com propriedades antioxidantes consumidas na dieta como o tocoferol (vitamina E), beta-caroteno (pro-vitamina A), selênio, cobre, zinco, ácido ascórbico, vitamina E e glutatona reduzida (GSR) diminuem a ação tóxica das EROS produzidas intra e extracelularmente (26).

O principal sistema de defesa antioxidante é constituído por enzimas antioxidantes como as superóxido dismutases (CuZn-SOD - citosólica e extracelular, Mn-SOD - mitocondrial), catalase (heme-enzima) e glutatona peroxidase (GR/GPX - dependentes e não dependentes de selênio) para decomporem, respectivamente, o ânion O_2^- , H_2O_2 e lipoperóxidos (26). A glutatona redutase (GR) é outra enzima importante nesse processo. Esta enzima, mesmo não agindo diretamente na remoção de radicais é responsável pela regeneração da glutatona em sua forma reduzida (GSH), utilizado como substrato da enzima GPX. Apesar de essas defesas antioxidantes reduzirem os riscos de lesões oxidativas por EROS, os organismos podem vivenciar situações onde a proteção é insuficiente. Quando acontece um desbalanço entre a produção de EROS e defesa antioxidante se estabelece a situação de estresse oxidativo (7).

O exercício físico é uma condição que exerce influência sobre o balanço entre ataque oxidativo e os mecanismos de defesa antioxidante. Durante os exercícios físicos, ocorrem várias reações químicas que levam à formação de EROS. Para proteger os tecidos contra os danos causados pelas EROS produzidos durante o exercício físico as enzimas antioxidantes como SOD, catalase e GPX/GR parecem responder de maneira adaptativa, elevando suas atividades nos tecidos e órgãos de indivíduos treinados. Isso ocorre principalmente em treinamentos do tipo de endurance (4; 8; 13).

Por motivos óbvios, estudos envolvendo exercício têm sido realizados com ratos, sendo o lactato sanguíneo usado para a determinação da intensidade de esforço. Recentemente, nosso grupo de pesquisa constatou que ratos sedentários, durante exercício de natação com sobrecarga fixa, apresentam máxima fase estável de lactato (MLSS), definida como a mais alta concentração de lactato durante exercício onde a entrada do substrato na corrente sanguínea iguala-se à remoção, com sobrecargas de 5 e 6% do peso corporal, à concentração sanguínea de lactato de 5,5 mM/L (6). Em outro estudo, constatamos que existe, nesses animais, coincidência entre o MLSS e o limiar anaeróbio (LAN), definido como a carga de trabalho na qual o lactato começa a se acumular desproporcionalmente no sangue durante exercícios com cargas progressivas (25). Tais achados permitiram avaliação mais precisa da intensidade do exercício de natação realizada por ratos em diferentes circunstâncias.

Poucos são os estudos que associam variáveis metabólicas com a intensidade do esforço, especialmente durante a natação, nesses animais. O presente trabalho tem como objetivo analisar biomarcadores de condicionamento aeróbio e de estresse oxidativo em ratos submetidos ao treinamento físico de natação na intensidade equivalente ao LAN.

Metodologia

1. Animais: Foram utilizados 20 ratos machos da linhagem Wistar, com 80 dias de idades no início do experimento, que tiveram livre acesso a água e ao alimento (ração comercial para roedores) durante todo o experimento. Os procedimentos realizados, com os animais foram aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Unicamp, Campinas, SP.
2. Adaptação ao meio líquido: Os ratos foram adaptados ao meio líquido por 2 semanas, 5 dias por semana em tanques coletivos (100 X 80 X 80 cm) contendo água rasa a $30 \pm 2^\circ\text{C}$ por 60 minutos diários. Na segunda semana, os animais portaram sobrecarga equivalente a 5% do peso corporal, atada ao tórax.
3. Determinação do limiar anaeróbio (Teste do lactato mínimo): Após o período de adaptação, 10 animais tiveram o LAN determinado pelo teste do lactato mínimo, descrito originalmente para seres humanos (23) e adaptado às condições do rato (25). Esse teste baseia-se no princípio que durante teste de exercício com cargas progressivas realizadas imediatamente após uma sessão de exercício máximo, que induz hiperlactecemia, o lactato sanguíneo inicialmente declina para um valor mínimo para em seguida, aumentar novamente. Esse valor mínimo de lactato sanguíneo (LMS) indica o limiar anaeróbio (23). Inicialmente, os animais foram colocados individualmente em tanques (100 X 80 X 80cm) contendo água a $30 \pm 2^\circ\text{C}$ suportando sobrecarga de 50% do peso corporal (sobrecarga utilizada para provocar hiperlactecemia) e exercitaram-se (saltos) durante 6 minutos (30 s de atividade, interrompidos por 30 s de repouso). Em seguida, foram coletadas amostras de sangue (25 μl) através de corte na extremidade distal da cauda, para a determinação da concentração do substrato. Após 9 minutos de repouso, os animais iniciaram exercício com cargas progressivamente maiores. A carga inicial foi de 4,5% do peso corporal, sendo acrescido de 0,5% a cada 5 minutos, até a exaustão. A cada troca de carga foi coletado amostra de sangue (25 μl) para dosagem de lactato. LMS foi determinado a partir de uma tangente zero grau a uma função "SPLINE" ajustada à curva lactato sanguíneo vs carga de trabalho (25).
4. Teste de esforço com carga fixa: Esse teste foi efetuado para a verificação da ocorrência de estabilização do lactato sanguíneo durante o exercício. Uma semana após a determinação do LAN, os animais foram submetidos a uma sessão de 20 minutos de natação suportando carga equivalente ao mesmo em tanques coletivos (100 X 80 X 80cm) contendo água a $30 \pm 2^\circ\text{C}$, com coleta de sangue (25 μl) a cada 5 minutos para dosagem de lactato

- (6). Durante a semana decorrida entre a determinação do LAN e o teste de esforço, todos os ratos continuaram o processo de adaptação ao meio líquido.
5. **Treinamento físico:** Decorrida uma semana do teste de esforço com carga fixa, os 10 ratos foram submetidos aos testes de lactato mínimo e ao teste de carga fixa (Grupo Treinado) iniciaram treinamento de natação suportando sobrecarga equivalente ao LAN, 1 hora por dia, 5 dias por semana, por período de 4 semanas. Os 10 animais restantes foram mantidos inativos sendo apenas submetidos ao protocolo de adaptação ao meio líquido (Grupo Controle). Ao final desse período, todos os ratos (Controles e Treinados) foram novamente submetidos ao teste de esforço com carga fixa.
 6. **Sacrifício dos animais:** Decorridas 48 horas do último teste de esforço com carga fixa, todos os animais foram sacrificados com éter etílico e logo após o sangue (cerca de 8 mL) foi coletado da veia hepática para determinação de: 1) concentração de produtos que reagem ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), como biomarcador de ataque oxidativo; 2) atividade das enzimas catalase (CAT) e glutatona redutase (GR), como biomarcadores do sistema de defesa antioxidante; 3) atividade da enzima creatinaquinase (CK) como biomarcador de lesões musculares.
 7. **Atividades enzimáticas:** Os ensaios para a determinação da atividade GR foram conduzidos de acordo com Smith et al. (19) e aqueles para determinação da atividade CAT, de acordo com Aebi (1). As dosagens de CK foram executadas com auxílio do aparelho Reflotron (Böehringer Mannheim). A atividade de CK é determinada indiretamente, através de reações acopladas, seguindo a decomposição do H_2O_2 .
 8. **Produtos que reagem ao ácido tiobarbitúrico (TBARS):** Um dos métodos para se quantificar os produtos da peroxidação lipídica é o método de análise da formação de substâncias que reagem ao ácido tiobarbitúrico (TBARS). Este método consiste na análise dos produtos finais da peroxidação lipídica (peróxidos lipídicos, malondialdeído, e outros aldeídos de baixo peso molecular) que, ao reagirem com o ácido 2-tiobarbitúrico (TBA), formam bases de Schiff. Os procedimentos foram realizados de acordo com Okawa et al. (11).
 9. **Lactato sanguíneo:** As concentrações de lactato no sangue total foram determinadas em analisador eletroquímico (YSI modelo 1500 SPORT).
 10. **Estatística:** Os resultados foram analisados por meio de teste-t de Student não pareado e análise de variância, onde apropriado. Em todos os casos, o nível de significância foi estabelecido em 5%.

Resultados

As concentrações médias de lactato sanguíneo dos ratos frente às cargas crescentes de trabalho durante o teste de lactato mínimo acham-se na Figura 1. Como pode ser observado, a curva ajustada aos dados de lactato sanguíneo derivados do teste com cargas progressivas mostra, conforme esperado, forma de U. O LMS foi indicado pela carga na qual a curva atingiu o nadir. O LAN médio, expresso

como a carga no qual o LMS foi calculado em todos os ratos foi $4,97 \pm 0,22$ % do peso corporal enquanto que a concentração sanguínea média de lactato nessa carga foi $7,28 \pm 0,19$ mmol/L.

Figura 1 – Determinação do lactato mínimo sanguíneo (LMS) médio dos ratos (n=10) durante teste de cargas progressivas. Cada ponto indica a concentração sanguínea de lactato (mmol/L) nas ordenadas, após um “tiro” de 5 min. de exercício com os animais suportando cada carga indicada na abscissa. O LMS e a carga de trabalho correspondente foram calculados ajustando-se a curva, usando função “spline”. O nadir da curva em forma de “U” obtida indica a carga de trabalho estimada correspondente ao LMS.

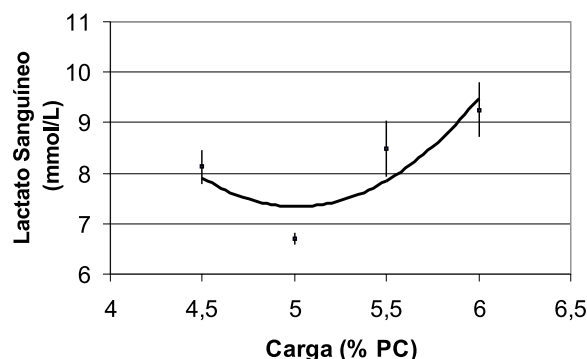
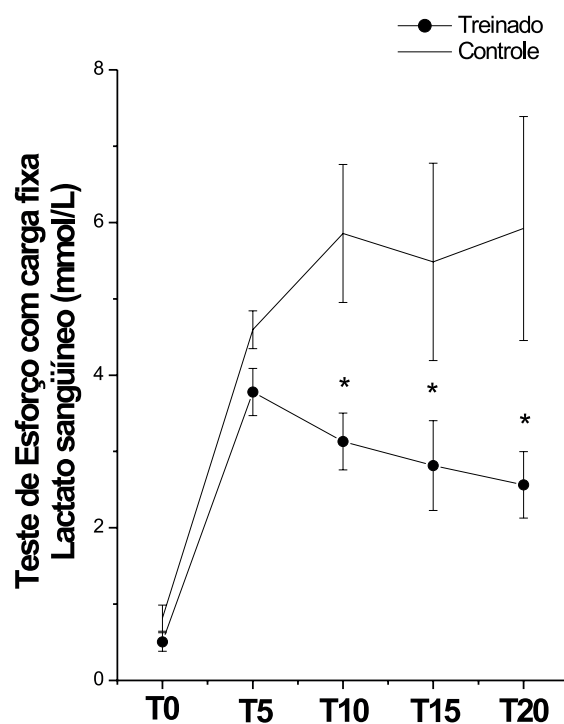


Figura 2 – Lactato sanguíneo (mmol/L) durante o segundo teste de esforço com carga fixa realizado para checar estabilização do lactato sanguíneo durante exercício de natação realizado na carga equivalente ao limiar anaeróbio (5% do peso corporal). Resultado expresso como média \pm desvio padrão de 10 ratos por grupo. (*) diferença significativa ($P < 0,05$, ANOVA), em relação ao grupo controle.





No primeiro teste de esforço com carga fixa realizado para verificação da estabilização do lactato sanguíneo em 10 animais durante exercício de natação por 20 minutos na carga equivalente ao LAN, o lactato estabilizou-se após 5 minutos à concentração de $5,6 \pm 1,2$ mmol/L. No segundo teste (Figura 2), o lactato sanguíneo estabilizou-se, após 5 minutos de exercício à concentração de $4,5 \pm 0,21$ mmol/L nos ratos controles e de $2,5 \pm 1,2$ mmol/L nos ratos treinados.

A Figura 3 resume os resultados referentes às atividades das enzimas GR e CAT no sangue dos animais. Houve redução significativa na atividade de ambas as enzimas no sangue dos ratos treinados em comparação aos controles. A Figura 4 mostra que houve aumento significativo das concentrações de TBARs no sangue dos ratos treinados em relação aos controles. Constatou-se, ainda, redução significativa da atividade da enzima CK no sangue dos ratos treinados (Figura 5).

Figura 3 – Atividade das enzimas Glutaciona redutase e Catalase no sangue dos animais. Resultados expresso como média \pm desvio padrão de 10 ratos por grupo. (*) diferença significativa ($P < 0,05$, *Teste-t*), em relação ao grupo controle.

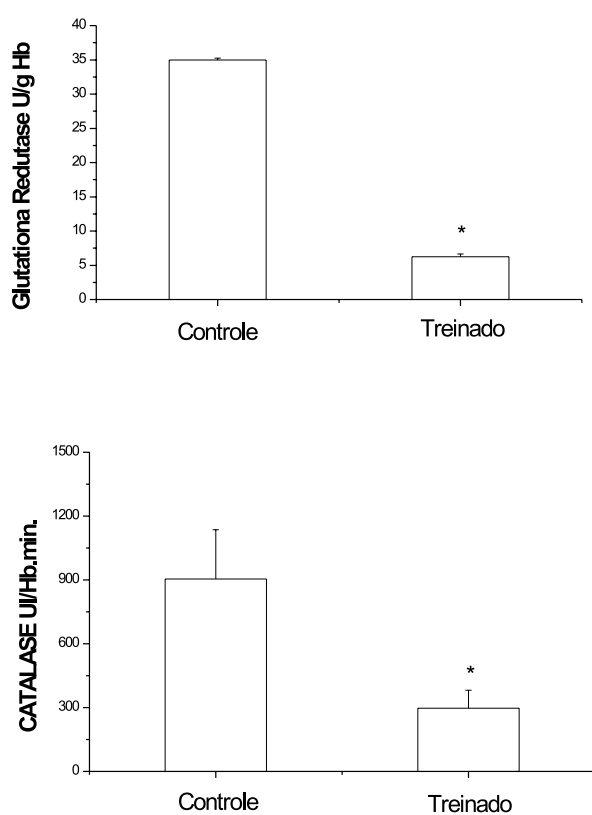
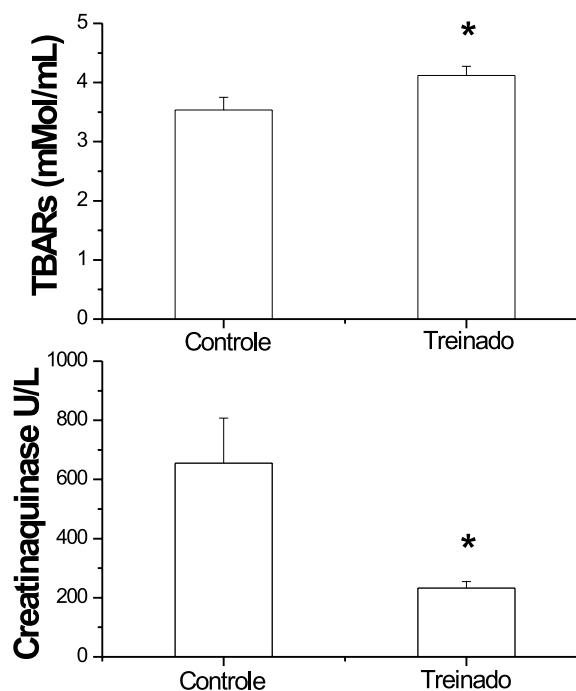


Figura 4 – TBARs e atividade da enzima Creatinaquinase no plasma dos animais. Resultados expresso como média \pm desvio padrão de 10 ratos por grupo. (*) diferença significativa ($P < 0,05$, *Teste-t*), em relação ao grupo controle.



Discussão

A análise dos resultados referentes ao teste de lactato mínimo, efetuado no início do período experimental, demonstrou que nos ratos, durante exercício de natação com intensidades crescentes realizados após acidose láctica induzida por exercício máximo, as alterações de lactato sanguíneo mostram um padrão semelhante àquele descrito para seres humanos (23). Isso possibilitou cálculo da intensidade de exercício na qual o lactato sanguíneo atinge os valores mais baixos. Esta intensidade, que indica o LAN (6), foi estimada na carga de $4,97 \pm 0,22\%$ do peso corporal, para o lote de ratos aqui avaliados. Esses resultados confirmam os dados anteriores de nosso grupo, obtidos com o mesmo teste aplicado a ratos sedentários (25). Por outro lado, Pillis et al. (14) verificaram que em ratos, sedentários durante corrida em esteira com intensidades crescentes, o LAN foi encontrado quando a concentração sanguínea de lactato era de aproximadamente 4,0 mmol/L. Mais recentemente, Priviero et al. (16) verificaram que a máxima fase estável de lactato durante corrida em esteira com velocidades constantes foi alcançada quando a concentração de lactato atingiu 4,0 mmol/L, ou seja, o mesmo valor obtido por Pillis et al. (14). Já resultados anteriores obtidos por nosso grupo com testes de natação com cargas constantes mostraram máxima fase estável de lactato na concentração sanguínea de 5,5 mMol/L (6).

Com os protocolos de testes empregados no presente estudo no início do experimento foi possível não só determinar o LAN como checar a ocorrência de estabilização do lactato



sangüíneo durante exercício realizado na intensidade correspondente ao mesmo. Nossos resultados apontaram estabilização do lactato sangüíneo na concentração de 5,6 mmol/L quando os animais se exercitaram no LAN, confirmando os resultados anteriores de nosso grupo (6). Tal valor, contudo, foi significativamente inferior (teste t, $p < 0,05$) àquele estimado na carga de trabalho equivalente ao LAN durante o teste de lactato mínimo.

Para avaliar a eficácia do protocolo de treinamento na melhora do condicionamento aeróbio dos animais, analisamos, ao final do experimento, a concentração de lactato sangüíneo dos animais treinados e controles durante teste de esforço, constando de sessão única de natação por 20 minutos suportando a sobrecarga fixa equivalente ao LAN determinado no início do experimento. Os valores observados nos treinados foram inferiores aos dos controles. Isso indica que o protocolo foi eficaz em melhorar o condicionamento aeróbio dos animais (6). Esses resultados mostram, ainda, que os animais realizaram exercício de intensidade baixa ou moderada, uma vez que houve estabilização do lactato sangüíneo durante a realização do teste.

Embora os animais do presente estudo tenham sido mantidos com dieta balanceada e exercícios físicos moderados, houve diferença significativa em relação aos biomarcadores do ataque oxidativo, do sistema de defesa antioxidante e de lesões musculares entre ratos controles e treinados.

Peroxidação de resíduos ácidos graxos insaturados dos fosfolípidios da membrana celular pode resultar em perda significativa da integridade da membrana, que é um dos efeitos mais marcantes do dano oxidativo (22), levando à geração de alcanos e aldeídos potencialmente deletérios. Infelizmente, se 4 hidroxinonenal (4-HNE) é excluído, a detecção de lesão na membrana não é diretamente mensurável. Por isso, o teste inespecífico de produtos que reagem ao ácido tiobarbitúrico (TBARs) é bastante empregado como indicador de ataque oxidativo (21). No presente estudo, TBARs apareceram significativamente elevados no sangue dos animais treinados em comparação aos controles, indicando maior ataque oxidativo nos primeiros que nos últimos.

Aumento na peroxidação lipídica tem sido relatado após o exercício (2; 9) embora nem sempre seja constatado (18; 24). O aumento na peroxidação lipídica parece ser tecido específico. Avula e Fernandes (4) constataram redução da peroxidação lipídica nos rins e nas glândulas salivares e aumento da mesma no fígado de camundongos treinados por corrida em esteira analisados em repouso, em comparação dos sedentários. Nenhuma diferença foi constatada no músculo esquelético e cardíaco entre os dois grupos. Radak et al. (17) também não verificaram qualquer diferença nos níveis de peroxidação lipídica no músculo esquelético de ratos treinados por natação e sedentários, analisados em repouso. Os níveis de pentano e etano apareceram 2 a 3 vezes mais elevados do que os valores de repouso em homogeneizados de fígado e músculo esquelético de ratos após corrida até a exaustão (5). Alessio e Goldfarb (2) constataram pequeno aumento na peroxidação tanto no fígado quanto no músculo esquelético de ratos após exercício submáximo decorrida em esteira.

O aumento do ataque oxidativo produzido pelo exercício seria menos deletério se fosse compensado por aumento

nos mecanismos celulares de defesa antioxidante. Espécies reativas de oxigênio são removidas por uma série de enzimas, iniciando-se pela superóxido dismutase (SOD), seguida pela catalase (CAT) e glutatona peroxidase (GP). A glutatona redutase (GR) é outra enzima importante no ciclo glutatona redox (26). No presente estudo observamos redução significativa na atividade das enzimas CAT e GR nos enterócitos dos ratos treinados quando comparados dos sedentários. Essa redução, provavelmente, concorreu para que os animais treinados sofressem maior ataque oxidativo que os controles, conforme inferida pelos valores sangüíneos de TBARs.

A questão do treinamento físico aumentar ou não a atividade das enzimas do sistema antioxidante permanece controversa. Enquanto alguns autores demonstraram aumento da atividade enzimática antioxidante (CAT, SOD e GP) em músculo esquelético induzida pelo treinamento físico (13; 20) outros não constataram nenhuma alteração na atividade das mesmas enzimas (2). A resposta das enzimas antioxidantes musculares parece ser dependente do ergômetro utilizado: natação (12), corrida em esteira (2; 20) ou ocorrida em roda de atividade espontânea (18); do protocolo de exercício contínuo (2) ou intermitente (3; 20) assim como do tipo de fibra muscular (3; 15) e da espécie estudada: rato (2; 12; 20), camundongo (4) ou outros mamíferos (18).

Resultados preliminares de outra série de experimentos realizada em nosso laboratório (dados não publicados) indicam que o prolongamento do período de treinamento por natação na intensidade do LAN de 4 para 8 semanas possa reduzir os indicadores de ataque oxidativo bem como elevar a atividade das enzimas antioxidantes.

Existem também, estudos mostrando atividade ligeiramente reduzida de enzimas antioxidantes (CAT) em músculo de ratos treinados por natação e sacrificados em repouso e atividade significativamente mais elevada em ratos treinados do que em sedentários imediatamente após exercício agudo (2). Isso sugere que em certas circunstâncias, o exercício agudo possa modular a expressão das adaptações induzidas pelo treinamento em relação à atividade das enzimas antioxidantes. Infelizmente, no presente estudo não foi realizado exercício agudo.

A enzima creatinaquinase (CK) tem importância no diagnóstico de doenças do músculo esquelético, como distrofia muscular e do músculo cardíaco, na suspeita de infarto do miocárdio. Ela apresenta, em condições normais, atividade elevada no músculo cardíaco, no músculo esquelético e, em menor escala nos pulmões, rins, fígado e enterócitos. Sua função é transferir, de maneira reversível, a união rica em energia, da fosfocreatina ao difosfato de adenosina (ADP), formando creatina e trifosfato de adenosina. No caso de lesões teciduais, a enzima é liberada no líquido extracelular, aumentando sua atividade no soro. Uma condição fisiológica que eleva a atividade da CK no soro é o exercício físico (10). Um dado bastante interessante obtido no presente estudo foi a redução da atividade CK no sangue dos ratos treinados em comparação com os controles, sugerindo redução das lesões musculares nos primeiros.

Conclusão

O conjunto dos nossos resultados sugere que o treinamento por exercício de natação na intensidade equivalente ao LAN durante 4 semanas foi eficaz em melhorar o condicionamento aeróbio dos animais e reduzir as lesões musculares. Por outro lado, o referido protocolo de treinamento não desencadeou adaptações favoráveis nas atividades das enzimas antioxidantes, nas condições do presente estudo.

Agradecimentos

Os autores agradecem o excelente apoio técnico de Clarice Y. Sibuya, José Roberto da Silva, Eduardo Custodio e Daniel Bosso.

Referências Bibliográficas

1. Aebi H. Catalase. *Methods in Enzymology*. 1984; 105: 121-126.
2. Alessio HM, Goldfarb AH. Lipid peroxidation and scavenger enzymes during exercise: adaptative response to training. *Journal Applied Physiology*. 1980; 64:1333-1336.
3. Atalay MI, Seene T, Aniñen O, Sen CK. Skeletal muscle and heart antioxidant differences in response to sprint training. *Acta Physiologica Scandinavica*. 1996; 158:129-134.
4. Avula RCP, Fernandes G. Modulation of antioxidant enzymes and lipid peroxidation in salivary gland and other tissue in mice by moderate treadmill exercise. *Aging*. 1999; 11(4):246-252.
5. Gee DL, Tappel AL. The effect of exhaustive exercise on expired pentane as a measure of in vivo lipid peroxidation in rat. *Life Science*. 1981; 28:2445-2449.
6. Gobatto CA, Mello MAR, Sibuya CY, Azevedo JRM, Santos LA, Kokubun E. Maximal lactate steady state in rats submitted to swimming exercise. *Comparative Biochemistry Physiology*. 2001; 130A:21-27.
7. Halliwell B., Gutteridge JMC. *Free radicals in biology and medicine*. 2nd Oxford: Clarendon Press, 1989.
8. Jenkins RR, Goldfarb A. Introduction: oxidant stress, aging and exercise. *Medicine and Science in Sports and Exercise*. 1993; 25: 210-212.
9. Miyazaky H, Oh-Ishi S, Ookawara T, Kizaki T, Toshiaki HAS, Haga SA, *et al*. Strenuous endurance training in humans reduces oxidative stress following exhausting exercise. *European Journal Physiology*. 2001; 84(1-2):1-6.
10. Moura RA, Wada CS, Purcniu A, Almeida TV. *Enzimologia Clínica*. In: Moura RA *et al*. *Técnicas de laboratório*, Livraria Ateneu, 3^o ed, São Paulo, 1987, p. 103-122.
11. Okawa H, Nobuko O, Yagi K. Assay for lipid peroxidation in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analalitical Biochemistry* 95: 351-358, 1979.
12. Pereira B, Rosa LFBC, Safi DA, Medeiros HG, Curi R, Bechara EJH. Superoxide dismutase, catalase, and glutathione peroxidase activities in muscle and lymphoid organs of sedentary and exercise-trained rats. *Physiology and Behavior*. 1994; 56(5):1095-1099.
13. Pereira B, Costa Rosa LFPB, Bechara EJH, Curi R. Antioxidant enzymes in the lymphoid organs and macrophages of rats trained to moderate exercise. *Ciencia e Cultura*. 1996; 48:43-46.
14. Pillis W, Zarzeczny R, Langfort J, Kaciuba-Uscilka H, Nazar K, Wortyna J. Anaerobic threshold in rats. *Comparative Biochemistry Physiology*. 1993; 106A:285-289.
15. Powers SKI, Criswell D, Lawer J, Ji LL, Martin D, Herb RA, *et al*. Influence of exercise and fiber type on antioxidant enzyme activity in rat skeletal muscle. *American Journal of Physiology Regulatory Integrate and Comparative Physiology*. 1994; 266: R375-R380.
16. Privero FB, Zanesco A, Teixeira CE, Nogueira TCA, Antunes E, Nucci G, *et al*. Maximal lactate steady state determination in sedentary rats submitted to treadmill running. *Anais do XXIV Simpósio Internacional de Ciências do Esporte*. p.85, São Paulo, AP, 2001.
17. Radak Z, Kaneko T, Tahara S, Nakamoto H, Ohno H, Sasvári M, *et al*. The effect of exercise training on oxidative damage of lipids, proteins and DNA in rat skeletal muscle evidence for beneficial outcomes. *Free Radical Biology & Medicine*. 1999; 27(1/2), 69-74.
18. Selman C, McLaren JS, Collins Ali Duthie GG, Speakman JR. Antioxidant enzyme activities, lipid peroxidation and DNA oxidative damage: Effects of short-term voluntary where running. *Archives in Biochemistry and Biophysics*. 2002; 401:255-261.
19. Smith FR, Goodaman DS, Zaklama MS, Gabr MK, Maraghy SE, Patwardhan VN. Serum vitamin A, retinol-binding protein, and prealbumin concentration in protein-calorie malnutrition. *American Journal of Clinical Nutrition*. 1973; 26: 973-981.
20. Smolka M, Zoppi CC, Alves AA, Silveira LR, Marangoni S, Pereira Da Silva L, *et al*. HSP-72 as a complementary protection against oxidative stress induced by exercise in the soleus muscle of rats. *American Journal of Physiology Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*. 2000; 279:E1539-45.
21. Stadtman ER, Oliver CN. Metal catalyzed oxidation of protein. *Journal Biological Chemistry*. 1991; 266: 2005-2008.
22. Tappel AL. Lipid peroxidation damage to cell components. *Federation Proceedings*. 1973; 32:1870-1874.
23. Tegtbur U, Busse MW, Brawman KR. Estimation of individual equilibrium between production and catabolism during exercise. *Medicine and Science in Sports and Exercise*. 1993; 25:620-624.
24. Viinikka L, Vuori J, Ylikorkala O. Lipid peroxides prostocycdein and thromboxane AZ in miners during acute exercise. *Medicine and Science in Sports and Exercise*. 1984; 16:275-277.
25. Voltarelli FA; Gobatto CA, Mello MAR. Determination of anaerobic threshold in rats using the lactate minimum test. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. 2002; 35 (11): 1389-1394.
26. Yu BP. Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. *Physiological Reviews*. 1994; 74: 139-161.