

# USO DO TESTE DE DUPLOS ESFORÇOS PARA AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE AERÓBIA DE RATOS OBESOS INDUZIDOS POR DIETA



DOUBLE EFFORT TEST FOR EVALUATION OF AEROBIC CAPACITY OF DIET-INDUCED OBESE RATS

Bruna Brasil Brandão<sup>1</sup>  
Lidiane Moreira de Souza<sup>1</sup>  
Beatriz de Novais Oliveira Trombetta<sup>1</sup>  
Carlos Marcelo Pastre<sup>1</sup>  
Marcelo Papoti<sup>2</sup>  
Patricia Monteiro Seraphim<sup>1</sup>

1. Departamento de Fisioterapia,  
Laboratório do Grupo de Pesquisa  
em Fisiologia, Universidade Estadual  
Paulista Júlio de Mesquita Filho.  
2. Escola de Educação Física e  
Esporte de Ribeirão Preto, USP.

## Correspondência:

Patricia Monteiro Seraphim  
Departamento de Fisioterapia –  
Laboratório GPFis, Bloco III – FCT/UNESP  
Rua Roberto Simonsen, 305 –  
Centro Educacional 19060-900  
Presidente Prudente, SP, Brasil.  
E-mail: patricia@fct.unesp.br

## RESUMO

**Introdução:** Há uma grande carência na literatura de estudos aprofundando o conhecimento em relação às ações do lactato e algumas limitações nas investigações com indivíduos saudáveis ou portadores de algum transtorno metabólico. **Objetivo:** Verificar se é possível avaliar a capacidade aeróbia de ratos obesos induzidos por dieta através do teste de duplos esforços. **Métodos:** Quatorze ratos machos Wistar foram divididos em dois grupos: Controle (Con) e Obeso (Obe). Os animais controles foram alimentados com ração-padrão e água fornecida *ad libitum*. O grupo de ratos obesos foi alimentado com ração padrão e dieta hiperlipídica. Após 12 semanas do início da dieta foi realizado o teste de tolerância à insulina, de máxima fase estável de lactato (MFEL) e o teste de duplos esforços. **Resultados:** A dieta foi eficiente para induzir a obesidade nos animais. Os animais obesos apresentaram redução na sensibilidade à insulina de aproximadamente 19% (Con = 2,156 ± 0,1187 UA versus Obe = 1,742 ± 0,1551 UA). No teste de máxima fase estável, a concentração de lactato e velocidade correspondente ao limiar anaeróbio foram 3,780 ± 0,09 mmol/L e 18 m.min<sup>-1</sup>, para ambos os grupos. A velocidade de limiar estimada pelo teste de duplos esforços foi de 15,59 ± 0,653 m.min<sup>-1</sup> para os animais controles e 14,02 ± 0,565 m.min<sup>-1</sup> para os animais obesos. O teste de duplos esforços subestimou a capacidade aeróbia dos animais controles em 13% e obesos em 8,7%, contudo, apresentou correlação significativa com a MFEL (r = 0,88; P < 0,0075 Con / r = 0,92; P < 0,0031 Obe). **Conclusão:** O teste de duplos esforços pode ser uma alternativa interessante para avaliar a capacidade aeróbia tanto de animais sedentários saudáveis como de animais obesos.

**Palavras-chave:** obesidade, ácido láctico, corrida.

## ABSTRACT

**Introduction:** The literature lacks studies about lactate actions and some limitations in studies involving healthy individuals or patients with some metabolic disorder. **Objectives:** This study aimed to evaluate the protocol of double effort test for obese-induced rats. **Methods:** Fourteen male Wistar rats were divided into two groups: Control (Con) and Obese (Obe). The control group was fed with standard chow and water *ad libitum*. The obese group was fed with standard chow, water *ad libitum* and hyperlipidic diet. Twelve weeks after the beginning of the hyperlipidic diet, insulin tolerance test, Maximal Lactate Steady State (MLSS) test and the double efforts test were performed. **Results:** The diet was effective to promote obesity. The obese group decreased insulin sensitivity in approximately 19% (Con = 2.156 ± 0.1187 AU vs Obe = 1.742 ± 0.1551 AU). The lactate concentration and velocity of anaerobic threshold at MLSS test were 3.780 ± 0.09 mmol/L e 18 m.min<sup>-1</sup> in both groups. The velocity of anaerobic threshold estimated by double efforts test was 15.59±0.653 m.min<sup>-1</sup> in Con group control animals and 14.02±0.565 m.min<sup>-1</sup> in Obe group. The double effort test underestimated around 13% and 8.7% the aerobic capacity in control and obese groups respectively, however, presented significant correlation with MLSS (r = 0,88; P < 0,0075 controls / r = 0,92; P < 0,0031 obese). **Conclusion:** So, the double effort test can be an interesting alternative to evaluate the aerobic capacity for both healthy sedentary and obese animals.

**Keywords:** obesity, lactic acid, running.

## INTRODUÇÃO

Em 1808, Barzelius observou que o ácido láctico era produzido na musculatura de veados quando estes eram caçados<sup>1</sup>. Aproximadamente dois séculos mais tarde, o metabolismo do lactato ainda não está bem esclarecido necessitando maior entendimento sobre a produção, acúmulo, remoção e função deste ácido (Lactato + íons de hidrogênio) durante repouso e contração muscular<sup>2,3</sup>.

Muitos pesquisadores tentam entender as ações do lactato<sup>4-6</sup>. Em 1964, Wasserman e McLlory introduziram o termo Limiar Anaeróbio que poderia caracterizar o ponto de inflexão da curva lactacidêmica, momento em que é encontrada a zona de transição entre o metabolismo aeróbio e anaeróbio onde as concentrações deste ácido encontra-se aproximadamente a

4,0 mmol/L<sup>7</sup>. Desde então vários testes foram desenvolvidos para mensurar a capacidade aeróbia, como a máxima fase estável de lactato (MFEL), que pode ser definida como a maior intensidade no qual as concentrações de lactato se mantêm estáveis em exercício de longa duração, sendo o ponto de equilíbrio entre a produção e remoção do lactato<sup>8</sup>. O protocolo que avalia a MFEL consiste na aplicação de vários testes em diferentes intensidades com duração de 30 minutos realizados em dias distintos. Para cada intensidade, são coletadas amostras de sangue a cada cinco minutos de esforço<sup>9</sup>. Este teste é capaz de mensurar de maneira individual e fidedigna o momento de transição metabólica, sendo considerado padrão ouro para a validação de outros protocolos de teste de limiar anaeróbio<sup>10,11</sup>.

Além da MFEL, outros testes invasivos – lactato mínimo<sup>8</sup>, *on set blood*

*lactate* (OBLA) obtido pela concentração fixa de 4mmol/L de lactato<sup>12</sup>, teste de duplos esforços<sup>13</sup> – e não invasivos – Potência Crítica<sup>14</sup> – são capazes de avaliar a capacidade aeróbia. Contudo, devido a grande necessidade de aprofundar o conhecimento em relação às ações do lactato e algumas limitações nas investigações com humanos, é crescente a aplicação e validação de protocolos que avaliam a capacidade aeróbia em modelos experimentais utilizando ratos<sup>15,16</sup>.

Em 2011, Manchado-Gobatto<sup>17</sup> *et al.* validaram o protocolo não exaustivo de duplos esforços em esteira rolante utilizando ratos Wistar sedentários. Esse teste proposto por Chassain<sup>13</sup> e adaptado por Manchado-Gobatto<sup>17</sup> consiste na execução de dois esforços de cinco minutos em cada intensidade, separados por dois minutos de repouso entre eles, com coleta de sangue para análise lactacidêmica ao final do primeiro e segundo esforços, calculando-se o delta lactato nulo com estes valores. Acreditamos que por ser um teste que não acarreta a exaustão do organismo, a sua validação e aplicabilidade em populações que possuam alguma limitação na execução de esforços físicos ou alguma doença crônico-degenerativa seja muito relevante. As principais causas para o aumento de peso em forma de gordura estão relacionadas a fatores ambientais como mau hábito alimentar e inatividade física<sup>18,19</sup>. Dessa maneira, as principais medidas a serem tomadas para a prevenção e/ou tratamento da obesidade e doenças relacionadas são reeducação alimentar e a prática de exercício físico regular<sup>20,21</sup>. Assim, o objetivo do presente estudo foi testar a utilização e aplicabilidade do protocolo de teste de duplos esforços proposto por Chassain<sup>13</sup> e adaptado por Manchado-Gobatto<sup>17</sup> em ratos obesos induzidos por dieta hiperlipídica.

## MÉTODOS

Ratos machos Wistar pesando em torno de 200 g foram alojados no biotério, divididos em grupos de sete animais por gaiola, sob temperatura média de  $22 \pm 2^\circ\text{C}$  e ciclo claro/escuro de 12 horas, com o ciclo claro iniciando-se às 07h00min. Os procedimentos experimentais utilizados no presente estudo foram aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da UNESP – *Campus* Presidente Prudente, processo nº 74/2009.

### Indução de obesidade

Quatorze ratos foram distribuídos em dois grupos com sete animais – Controle (Con) e Obeso (Obe). Os animais controles foram alimentados com ração-padrão (marca SUPRA LAB – Alisul Ind. Alimentos Ltda., São Leopoldo/RS; com composição de 25% de proteínas, 3% de lipídeos, 18% de fibras, 11% de material mineral, 2% de cálcio e 0,5% de fósforo) e água fornecida *ad libitum*. O grupo de ratos obesos foi alimentado com dieta hiperlipídica composta por *bacon*, mortadela, salsicha, bolacha, refrigerante e ração padrão, numa proporção de aproximadamente 2:2:2:1:1:1, respectivamente, numa composição de 28% de carboidratos, 13% de proteínas e 59% de lipídeos, a partir do segundo mês de vida<sup>22</sup>. Os animais foram pesados semanalmente para acompanhamento da evolução de peso corpóreo.

### Teste de tolerância à insulina

O teste consiste na administração de insulina regular, sendo avaliada a taxa de decaimento da glicose ao longo de 25 minutos. O teste foi realizado ao final das 12 semanas de dieta, antes de dar início aos protocolos que avaliaram a capacidade aeróbia dos ratos. Os animais permaneceram seis horas em jejum de água, ração e dieta. Foi realizada pequena secção na extremidade distal da cauda dos animais para realização das coletas das amostras de sangue. A primeira coleta foi realizada antes da administração de insulina (basal) intraperitoneal. Foi administrada 1 U/kg de peso corpóreo de solução de insulina regular (Novolin 100U/ml) com salina 0,9% + BSA 0,25%. As coletas de sangue foram realizadas nos tempos

basal (0 minuto), cinco, dez, 15, 20 e 25 minutos, após a administração de insulina. A glicemia foi verificada por meio de glicofitas e glicosímetro (Biocheck TD-4225/Bioeasy Diagnóstica Ltda. /MG, Brasil). Esse procedimento foi realizado sempre no período da tarde para manter o mesmo estado de sensibilidade insulínica dos animais, e foi executado de forma idêntica para todos os grupos. Posteriormente, foi calculada a constante de decaimento (KITT expressa em %/min.) a partir da regressão linear das concentrações de glicemia obtidas durante o teste<sup>23</sup>.

### Adaptação à esteira rolante

Após 12 semanas de dieta hiperlipídica, anteriormente à realização do teste de Máxima Fase Estável de Lactato e o teste não exaustivo de duplos esforços (Chassain), houve a necessidade de seleção prévia dos ratos “corredores” para a composição da amostra, com duração de sete dias. Cada animal correu cinco minutos por dia a uma velocidade de 10 m.min<sup>-1</sup>. Foram selecionados os animais que conseguiram terminar com sucesso entre nove e 10 sessões. Após o período de seleção, os animais corredores passaram por um processo de adaptação à esteira rolante. Esse processo ocorreu ao longo de duas semanas com sessões de exercício, três vezes por semana, com velocidades crescentes (5-15 m.min<sup>-1</sup>), e duração máxima de 15 minutos cada sessão, sendo o protocolo adaptado de Manchado-Gobatto *et al.*<sup>17</sup>. Após o período de adaptação, os animais efetuaram os testes para a identificação da intensidade de limiar anaeróbio.

### Máxima fase estável de lactato (MFEL)

Os ratos foram submetidos a cinco testes contínuos em velocidades equivalentes a dez, 15, 18, 22 m.min<sup>-1</sup>. Cada animal realizou os quatro testes, com intervalo de 48 horas entre eles. A sequência de velocidades foi distribuída randomicamente. Para cada velocidade, os animais permaneceram em corrida contínua por 25 minutos. Amostras sanguíneas foram extraídas da cauda dos ratos em seis momentos: basal, cinco, dez, 15, 20 e 25 minutos de teste. Após a análise lactacidêmica um gráfico foi plotado e a mais alta velocidade de corrida na qual houve um aumento igual ou inferior 1 mmol/L do 10º ao 25º minuto de exercício foi considerada como equivalente a MFEL<sup>10,24</sup>.

### Teste de Chassain

O teste foi composto por dois esforços de cinco minutos de duração com intervalo passivo de dois minutos entre eles nas velocidades dez, 15 e 20 m.min<sup>-1</sup>. Cada animal realizou o teste nas três intensidades, escolhidas randomicamente, com intervalo de 48 horas entre elas<sup>16</sup>.

A carga crítica foi determinada utilizando os resultados do teste de Chassain (figura 1).

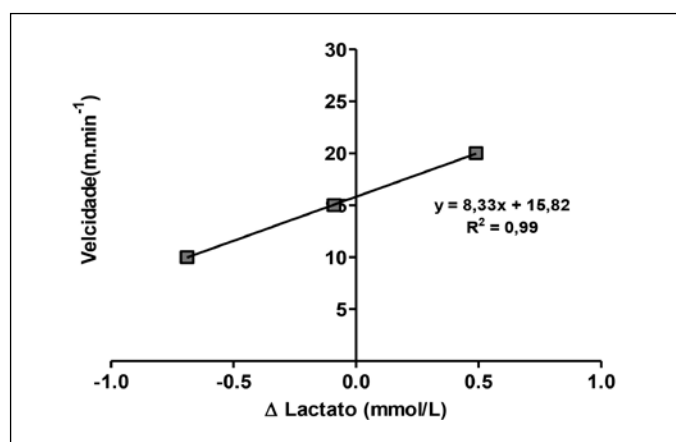


Figura 1. Exemplo da determinação da carga crítica pelo teste de Chassain. Os pontos representam o delta lactato obtido em cada intensidade. Uma regressão linear foi plotada e a velocidade de limiar corresponde ao valor do intercepto Y (16,22 m.min<sup>-1</sup>).

Este valor foi calculado para cada animal que realizou o teste. Os valores podem ser vistos nas tabelas 1 e 2 na seção de resultados.

### Análise lactacidêmica

A análise lactacidêmica foi realizada a partir de amostras de 25 µl de sangue que foram coletadas da proximidade distal da cauda do animal em capilar heparinizado após o primeiro esforço e após o segundo esforço em cada velocidade relacionada acima. Estas amostras foram imediatamente transferidas a tubos de 1,5 ml, contendo 50 µl de solução de NaF a 1% e armazenadas em gelo, para posterior leitura eletroenzimática (YSL 2700 STAT, Yellow Springs Co., EUA).

**Tabela 1.** Delta lactato das intensidades (10, 15, 20 m.min<sup>-1</sup>), estimativa individual da carga crítica (intercepto Y) e coeficiente linear (R<sup>2</sup>) dos animais controles – Teste de Chassain.

Animal	Δ Lactato			Velocidade de limiar (m.min <sup>-1</sup> )	R <sup>2</sup>
	10 m.min <sup>-1</sup>	15 m.min <sup>-1</sup>	20 m.min <sup>-1</sup>		
	mmol/L	mmol/L	mmol/L		
1	-0,15	0,00	0,15	15,65	0,98
2	-1,86	-0,71	0,39	18,22	0,99
3	-0,25	0,00	1,65	12,92	0,84
4	-0,48	-0,33	0,77	15,08	0,83
5	-1,87	-0,12	0,53	16,89	0,93
6	-0,30	-0,15	0,69	14,30	0,86
7	-0,68	-0,09	0,51	16,13	0,99
Média	-0,798	-0,200	0,670	15,59	0,917
EPM	0,282	0,094	0,180	0,653	0,027

**Tabela 2.** Delta lactato das intensidades (10, 15, 20 m/min<sup>-1</sup>), estimativa individual da carga crítica (intercepto Y) e coeficiente linear (R<sup>2</sup>) dos animais obesos – Teste de Chassain.

Animal	Δ Lactato			Velocidade de Limiar (m.min <sup>-1</sup> )	R <sup>2</sup>
	10 m.min <sup>-1</sup>	15 m.min <sup>-1</sup>	20 m.min <sup>-1</sup>		
	mmol/L	mmol/L	mmol/L		
1	-0,78	-0,6	0,24	18,26	0,87
2	-0,42	-0,33	0,09	18,75	0,87
3	-0,95	-0,48	1	15,67	0,91
4	-0,27	-0,42	0,09	17,62	0,47
5	-0,95	0	0,81	15,26	0,99
6	-0,68	0,42	0,72	14,01	0,90
7	-0,38	-0,03	0,42	15,42	0,97
Média	-0,632	-0,205	0,480	16,42	0,854
EPM	0,105	0,134	0,138	0,672	0,066

### Análise estatística

A normalidade dos dados foi confirmada pelo teste de Shapiro-Wilk. Para comparação dos valores de peso corporal, foi utilizado o teste de ANOVA com medidas repetidas. Para avaliar a sensibilidade à insulina, foi utilizado o teste *t* de Student não pareado. O teste de Correlação de

Person foi utilizado para avaliar a correlação entre os testes de Limiar Anaeróbio. As diferenças entre os grupos foram consideradas significantes quando o valor de *P* < 0,05. O pacote estatístico utilizado foi IBM SPSS Statistics 20.0 for Windows.

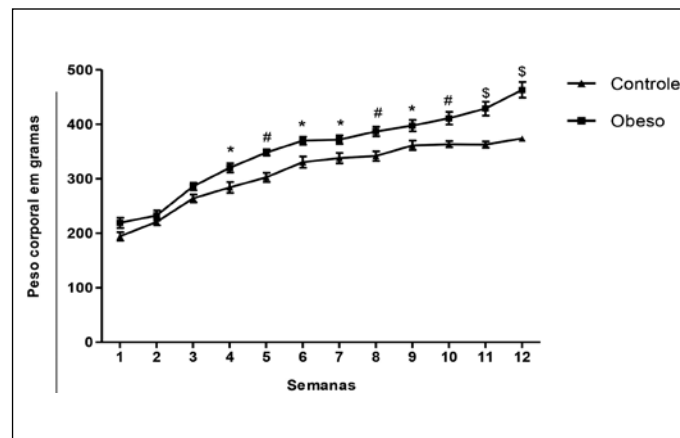
## RESULTADOS

A obesidade foi induzida por dieta hiperlipídica iniciada quando os animais estavam com dois meses de vida. Foi observado aumento de peso corpóreo no grupo obeso já a partir da quarta semana de dieta (figura 2).

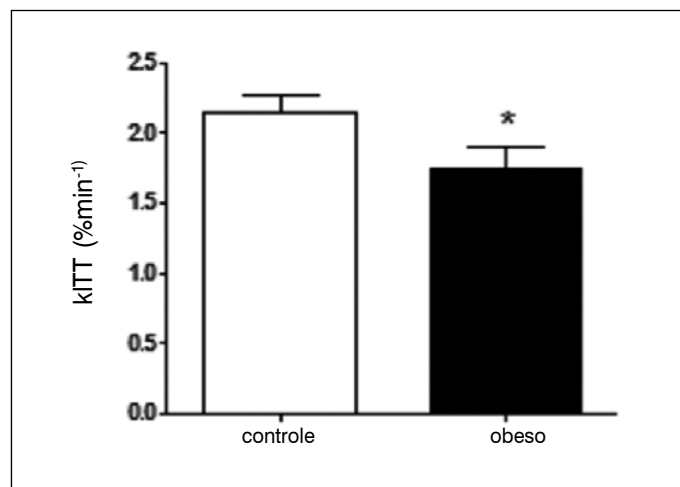
O grupo obeso apresentou redução na sensibilidade à insulina em aproximadamente 19% após 12 semanas de dieta (figura 3) e antes de realizar protocolo de treinamento.

Os valores de delta lactato aumentaram progressivamente conforme os incrementos na velocidade de esforço. Não foi observada diferença estatística entre os grupos no teste de duplos esforços. No teste de máxima fase estável, a concentração de lactato e velocidade de limiar anaeróbio foram 3.780 ± 0,09 mmol/L e 18 m.min<sup>-1</sup>, respectivamente, para ambos os grupos (figura 4).

A velocidade de limiar estimada pelo teste de Chassain foi de 15,59 ± 0,653 m.min<sup>-1</sup> (R = 0,917 ± 0,02) (tabela 1) para os animais do grupo controle. A velocidade de limiar estimada pelo teste de Chassain foi de 14,02 ± 0,565 m.min<sup>-1</sup> (R = 0,86 ± 0,03) (tabela 2) para os animais do grupo obeso.



**Figura 2.** Peso corporal dos animais ao longo de 12 semanas. Os dados são apresentados como média ± EPM. \**P* < 0,05 versus Controle; #*P* < 0,01 versus Controle; S<sup>‡</sup>*P* < 0,001 versus Controle. (n = 7).



**Figura 3.** Constante de decaimento da glicose por minuto (kITT). Os dados são apresentados como média ± EPM. \**P* < 0,05 versus Controle (n = 7).

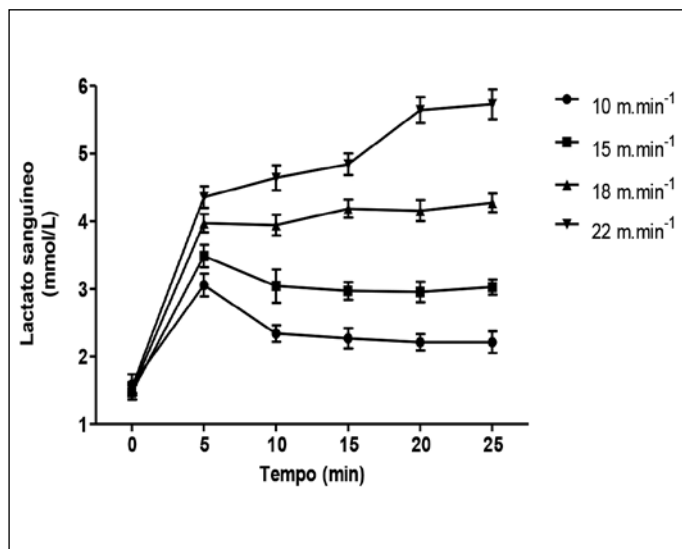


Figura 4. Valores de lactato sanguíneo durante o teste de Máxima Fase Estável de Lactato nos tempos 0, 5, 10, 15, 20 e 25 minutos de teste (n = 7). Dados apresentados como média  $\pm$  EPM.

## DISCUSSÃO

A utilização de modelos experimentais com ratos para avaliação de parâmetros metabólicos e fisiológicos diante de esforços físicos tem crescido rapidamente e tem sido extremamente fidedigna para humanos<sup>15,24</sup>. No entanto, ainda são escassos os estudos que avaliam a capacidade física de animais saudáveis e principalmente animais com algum transtorno metabólico. O presente estudo avaliou a capacidade aeróbia através do método proposto por Chassain<sup>13</sup> adaptado por Manchado-Gobatto<sup>17</sup> em ratos magros e obesos por dieta hiperlipídica.

Metade dos animais deste estudo foi submetida a um protocolo de dieta hiperlipídica com o intuito de se tornarem obesos. Após quatro semanas de exposição a esta dieta hiperlipídica, houve aumento significativo no peso corporal dos animais do grupo obeso e redução na sensibilidade à insulina quando comparados aos animais do grupo controle (figuras 2 e 3), que só receberam ração padrão como alimento, destacando o efeito obesogênico da dieta<sup>22</sup> e a relação entre a obesidade e alterações metabólicas causadas pelo excesso de gordura<sup>25</sup>. As citocinas liberadas pelo tecido adiposo em excesso podem gerar um quadro de inflamação sistêmica periférica<sup>26,27</sup>, alterando a sinalização da insulina, iniciando um possível estado de resistência ao hormônio<sup>28</sup>.

A obesidade, além de alterar as funções fisiológicas<sup>28</sup>, pode ser considerada como fator limitante para a execução de testes físicos, mesmo em animais. A maioria dos protocolos utilizados para identificar intensidade de esforço leva o animal a momentos de exaustão física<sup>24</sup>, o que reduz a aplicabilidade quando se trata de animais com alguma alteração metabólica crônica ou funcional. Dessa maneira, o teste de duplos esforços é muito vantajoso para avaliar a capacidade aeróbia de animais acometidos por alguma patologia por não ser exaustivo.

Para validar o método proposto, foi aplicado o teste da máxima fase estável de lactato (MFEL), considerado "padrão ouro" para identificar a capacidade aeróbia<sup>17</sup> (figura 4).

Manchado-Gobatto *et al.*<sup>17</sup> validaram o protocolo de duplos esforços em esteira rolante utilizando ratos machos Wistar sedentários saudáveis. A velocidade correspondente a MFEL foi 20 m.min<sup>-1</sup> (concentração de lactato = 3,90  $\pm$  0,03 mmol/L), com o protocolo

de Chassain subestimando a capacidade aeróbia dos animais em 20%, conforme considerações do próprio estudo. Os resultados deste estudo (figura 4) foram inferiores àqueles encontrados por Manchado-Gobatto *et al.*<sup>17</sup>. A intensidade correspondente a MFEL do grupo controle bem como do grupo obeso foi de 18 m.min<sup>-1</sup> (concentração de lactato = 4,13  $\pm$  0,139 mmol/L). O teste de duplos esforços subestimou a capacidade aeróbia dos animais em 13% (controle) e 8,7% (obesos), contudo, houve correlação significativa entre os testes para os animais do grupo controle (r = 0,88; P < 0,0075) e obeso (r = 0,92; P < 0,0031) (tabelas 1 e 2). Outros estudos, como o de Pilis *et al.*<sup>29</sup> e Langfort *et al.*<sup>30</sup>, que avaliaram o LAn utilizando o teste progressivo de multiestágios, estimaram a zona de transição metabólica através de gráficos individuais das concentrações de lactato versus velocidade e encontraram intensidades de LAn superiores (25 m.min<sup>-1</sup>).

As diferenças encontradas nas concentrações lactacidêmicas da MFEL e do teste de duplos esforços também sugere possível existência de protocolo-dependência como o observado no estudo de Manchado-Gobatto *et al.*<sup>17</sup>, contudo, o teste de duplos esforços apresentou alta correlação com a MFEL tanto para os animais controles quanto para os animais obesos que apresentaram alterações na sensibilidade à insulina, inferindo a possível aplicabilidade em populações com algum transtorno metabólico.

A grande limitação do estudo foi o fato dos animais não conseguirem atingir a velocidade de corrida de 25 m.min<sup>-1</sup> no teste de Máxima fase estável, o que gerou alteração nos testes para as velocidades de execução de 20 para 18 m.min<sup>-1</sup> e de 25 para 22 m.min<sup>-1</sup>, diferindo das sugeridas no estudo de Manchado-Gobatto *et al.*<sup>17</sup>. De forma semelhante, isso provocou exclusão da velocidade 25 m.min<sup>-1</sup> utilizada no teste de Chassain, mantendo-se apenas as velocidades 5, 10 e 20 m.min<sup>-1</sup>.

De fato, mais investigações são necessárias para compreender o comportamento lactacidêmico diante dos diferentes modelos animais e os diversos protocolos de avaliação do LAn. Cabe ainda ressaltar a importância de analisar modelos de testes que avaliem individualmente o LAn dos animais, tendo em vista que a intensidade de trabalho pode alterar as respostas fisiológicas. Assim, métodos que estimem a capacidade aeróbia de maneira individual apresentarão resultados fidedignos e possibilitará a prescrição de um protocolo de treinamento respectivo à capacidade física de cada animal.

## CONCLUSÕES

O teste de duplos esforços apresentou alta correlação com a MFEL, indicando sua possível aplicabilidade para avaliar a capacidade aeróbia tanto de animais sedentários saudáveis bem como de animais obesos com a sensibilidade à insulina prejudicada.

## AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao Prof. Dr. José Carlos Silva Camargo Filho pela disponibilidade na utilização do biotério na FCT-UNESP, Bruna Brasil Brandão foi bolsista da CAPES-Programa de Pós-Graduação Mestrado em Fisioterapia 2010/2011.

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

## REFERÊNCIAS

1. Gladden LB. Lactate metabolism: a new paradigm for the third millennium. *J Physiol* 2004;558:5-30.
2. Hall GVan. Lactate kinetics in human tissues at rest and during exercise. *Acta Physiol (Oxf)* 2010;199:499-508.
3. Faude O, Kindermann W, Meyer T. Lactate threshold concepts: how valid are they. *Sports Med* 2009;39:469-90.
4. Wasserman K, Whipp BJ, Koyl SN, Beaver WL. Anaerobic threshold and respiratory gas exchange during exercise. *J Appl Physiol* 1973;35:236-45.
5. Brooks GA. Current concepts in lactate exchange. *Med Sci Sports Exerc* 1985;23:895-906.
6. Baron B, Noakes TD, Deckerle J, Moullan F, Robin S, Matran R, et al. Why does exercise terminate at the maximal lactate steady state intensity? *Br J Sports Med* 2008;42:828-33.
7. Wasserman K, McIlroy, MB. Detecting the threshold of anaerobic metabolism in cardiac patients during exercise. *Am J Cardiol* 1964;14:844-52.
8. Tegtbur U, Busse MW, Braumann KM. Estimation of an individual equilibrium between lactate production and catabolism during exercise. *Med Sci Sports Exerc* 1993;25:620-7.
9. Manchado FB, Gobatto CA, Contartezze RVL, Papoti M, Mello MAR. Maximal lactate steady state in running rats. *JEP (online)* 2005;8:29-35.
10. Beneke T. Maximal lactate steady state concentration (MLSS): experimental and modelling approaches. *Eur J Appl Physiol* 2003;88:361-9.
11. Svedahl K, MacIntosh BR. Anaerobic Threshold: The Concept and Methods of Measurement. *Can J Appl Physiol* 2003;28:299-323.
12. Sjödin B, Jacobs I. Onset of blood lactate accumulation and marathon running performance. *Int J Sports Med* 1981;2:23-6.
13. Chassain A. Méthode d'appréciation objective de la tolérance de l'organisme à l'effort: application à la mesure des puissances de la fréquence cardiaque et de la lactatémie. *Science & Sports* 1986;1:41-8.
14. Monod H, Scherer J. The work capacity of a synergic muscular group. *Ergonomics* 1965;8:329-38.
15. Voltarelli FA, Gobatto CA, Mello MAR. Determination of anaerobic threshold in rats using the lactate minimum test. *Braz J Med Biol Res* 2002;35:1-6.
16. Manchado FB, Gobatto CA, Voltarelli FA, Mello MAR. Non-exhaustive test for aerobic capacity determination in swimming rats. *Appl. Physiol. Nutr. Metab* 2006;31:731-6.
17. Manchado-Gobatto FB, Gobatto CA, Contartezze RVL, Mello MAR. Non-exhaustive test for aerobic capacity determination in running rats. *Indian J Exp Biol* 2011;49:781-5.
18. D'Archivio M, Annuzzi G, Vari R, Filesi C, Giacco R, Scaccocchio B, et al. Predominant role of obesity/insulin resistance in oxidative stress development. *Eur J Clin Invest* 2012;42:70-8.
19. Pinheiro ARO, Freitas SFT, Corso ACT. Uma abordagem epidemiológica da obesidade. *Rev Nutr* 2004;17:534-3.
20. Kriska AM, Saremi A, Hanson RL, Bennett PH, Kobes S, Williams DE, et al. Physical Activity, Obesity, and the Incidence of Type 2 Diabetes in a High-Risk Population. *Am J Epidemiol* 2003;158:669-75.
21. Hopps E, Caimi G. Exercise in Obesity Management. *J Sports Med Phys Fitness* 2011; 51:275-82.
22. Panveloski AC, Pinto Junior DAC, Brandão BB, Moreira RJ, Machado UF, Seraphim PM. Treinamento resistido reduz a inflamação em músculo esquelético e melhora a sensibilidade à insulina periférica em ratos obesos induzidos por dieta hiperlipídica. *Arq Bras Endocrinol e Metabol* 2011; 55:155-63.
23. Pádua MF, Pádua TF, Souza CT, Silva ASR, Ropelle ECC, Cintra DE, et al. Exercício físico reduz a hiperglicemia de jejum em camundongos diabéticos através da ativação da AMPK. *Rev Bras Med Esporte* 2009;15 179-84.
24. Gobatto CA, Mello MAR, Sibuya CY, Azevedo JRM, Santos LA, Kokubun E. Maximal lactate steady state in rats submitted to swimming exercise. *Comp Biochem Physiol* 2001;130A:21-7.
25. Harford KA, Reynolds CM, McGillicuddy FC, Roche HM. Fats, inflammation and insulin resistance: insights to the role of macrophage and T-cell accumulation in adipose tissue. *Proc Nutr Soc* 2011;70:408-17.
26. Pedersen BK, Febbraio MA, Mooney RA. Interleukin-6 does/does not have a beneficial role in insulin sensitivity and glucose homeostasis. *J Appl Physiol* 2006;102:814-6.
27. Guimarães DED, Sardinha FLC, Mizuni DM, Carmo MGT. Adipocitocinas, uma nova visão do tecido adiposo. *Rev Nutr Campinas* 2007;20:549-59.
28. Monteiro R, Azevedo I. Chronic Inflammation in Obesity and the Metabolic Syndrome. *Mediators Inflamm*. 2010;2010. doi:pii: 289645. 10.1155/2010/289645. Epub 2010 Jul 14. Review. 2010: 289645
29. Pilis W, Zarzeczny R, Langfort J, Kaciuba-Uściłko H, Nazar K, Wojtyna J. Anaerobic threshold in rats. *Comp Biochem Physiol* 1993;106 A:285-9.
30. Langfort J, Zarzeczny R, Pilis W, Kaciuba-Uściłko H, Nazar K, Porta S. Effect of sustained hyperadrenalinemia on exercise performance and lactate threshold in rats. *Comp Biochem Physiol* 1996;114A:51-5.