

AVALIAÇÃO DE PARÂMETROS BIOQUÍMICOS EM RATAS FISCHER SUBMETIDAS AO TREINAMENTO DE NATAÇÃO EM DIFERENTES VOLUMES (30, 60, 120 e 240 MINUTOS).

WANDA MARIA DE FARIA,
RINALDO CARDOSO DOS SANTOS,
MARIA LÚCIA PEDROSA,
MARCELO EUSTÁQUIO SILVA.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO, OURO PRETO – MG, BRASIL.

mesilva@enut.ufop.br

INTRODUÇÃO

Estudo realizado por Bauman *et al.*, (2009), avalia que a inatividade física causa dois milhões de mortes anualmente em todo o mundo. O sedentarismo, a idade e a hereditariedade, são chamados de fatores de risco ao surgimento de doenças. Várias pesquisas têm evidenciado o quanto a atividade física tem sido eficiente na prevenção de doenças crônicas como diabetes, doenças cardiovasculares e, especialmente, a obesidade, causadas, principalmente, por alimentação altamente calórica e estilo de vida sedentário (Ciabattari, 2005).

McArdle *et al.*, (1998), verificaram que os efeitos do treinamento físico de volume e intensidade moderados exerciam efeitos positivos, reduzindo o risco de desenvolver doenças crônico-degenerativas, tais como cardiopatia e câncer. De fato, mesmo níveis relativamente baixos de atividade física exercem efeito protetor.

Estudos de fisiologia do exercício têm utilizado modelos animais com o objetivo de simular as condições de estresse físico observados em humanos, visando o melhor acompanhamento das alterações sistêmicas decorrentes do exercício. Os protocolos de exercício para animais devem simular adequadamente as situações a que se propõem as investigações. Dentre os principais meios utilizados para esses estudos, estão a esteira rolante e a natação. Os ratos são utilizados preferencialmente, por serem de fácil manipulação e por apresentarem boa resposta ao exercício. (Gobatto *et al.*, 2001).

OBJETIVO

Nosso objetivo é entender melhor os efeitos do exercício de natação no modelo animal ao treinamento em diferentes volumes (30, 60, 120 e 240 minutos) sobre marcadores bioquímicos da função hepática, renal, perfil lipídico e estresse oxidativo.

MATERIAIS E MÉTODOS

Animais

Foram utilizadas 46 ratas Fisher com 60 dias, com uma média de peso de 100g, distribuídas em cinco grupos, sendo um grupo sedentário com 10 animais e os demais grupos com 9 animais cada. Todos foram mantidos em gaiolas individuais, a uma temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$, sob ciclo de 12 h dia/noite. Durante o experimento foi usada a ração comercial própria para animais de laboratório. Durante o experimento, os animais receberam água filtrada e dieta *ad libitum*.

Treinamento

Os animais que se exercitaram foram adaptados ao meio líquido (água a $31^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$) da seguinte forma: 1º e 2º dias, 30 min. em piscina com água rasa; 3º e 4º dias, duas séries de 15 min. por 5 min. de intervalo em piscina com água a 50 cm de profundidade e no 5º dia nadaram 30 min. contínuos, mantendo a mesma profundidade do dia anterior. A partir da segunda semana até o término do experimento aumentava gradativamente o tempo de duração das sessões de natação, começando com 30', sendo que ao final do experimento um grupo nadaria em sessões de treinamento de 30', o outro 60', o outro 120' e o outro 240' de acordo

com o protocolo, cinco dias por semana. Os animais sedentários foram submetidos ao contato com a água durante 30 min. em piscina rasa durante todo o experimento, para que passassem pelo mesmo estresse de manuseio.

Avaliação Bioquímica

Para as dosagens bioquímicas (Proteínas totais, fosfatase, ALT, AST, creatinina, uréia, colesterol total, VLDL/LDL, triglicérides, HDL, CK, LDH) foram utilizados kits comerciais da Labtest. A paraoxonase foi realizada pelo método descrito por Beltowski et al., (2002) e Eckerson et al., (1983). A catalase foi realizada de acordo com o método de Aebi (1984). As sulfidrilas total e livre foram analisadas pelo método de Sedlak e Lindsay (1968).

Tratamento Estatístico

Foi realizada Anova One Way com pós teste de Tukey utilizando o software Prism® da GraphPad versão 4.00 para Windows, GraphPad software, San Diego, Califórnia, USA, www.graphpad.com.

RESULTADOS

Tabela 1 – Concentração de proteínas totais, atividade de Fosfatase alcalina, Trasaminase oxalacética (AST), trasaminase pirúvica (ALT), concentração de Creatinina, Uréia, Colesterol total, HDL, outras frações (LDL + VLDL), Triglicérides, atividade de creatina quinase (CK), desidrogenase láctica (LDH), Paraoxonase (PON), Catalase, Sulfidrilas Total e Sulfidrilas Livres de animais sedentários (n=10), treinados para nadar 30` (n=09) (T30`), 60` (n=09) (T60`), 120` (n=09) (T120`) e 240` (n=09) (T240`) obtidos após 14 semanas de experimento.

Parâmetros	Sedentário	T30`	T60`	T120`	T240`
PT (g/dL)	7.29 ± 0.36 ^a	8.19 ± 0.67 ^{b, c}	7.76 ± 0.20 ^{a, b}	8.36 ± 0.20 ^{c, d}	8.78 ± 0.43 ^d
Fosfatase (U/L)	21.76 ± 3.67 ^a	23.05 ± 3.82 ^a	27.44 ± 6.43 ^{a, b}	30.39 ± 6.6 ^b	28.33 ± 5.67 ^{a, b}
AST (U/mL)	22.23 ± 4.45 ^{a, b}	20.32 ± 5.10 ^b	26.13 ± 5.27 ^{a, b}	27.54 ± 5.06 ^a	28.55 ± 5.11 ^a
ALT (U/mL)	8.91 ± 0.92 ^a	10.22 ± 1.86 ^{a, b}	9.89 ± 1.48 ^{a, b}	9.83 ± 1.02 ^{a, b}	11.00 ± 1.32 ^b
Creatinina (µmol/L)	76.89 ± 5.09 ^a	78.18 ± 5.52 ^{a, b}	86.23 ± 3.51 ^b	76.86 ± 3.65 ^{a, b}	80.56 ± 13.06 ^{a, b}
Uréia (mmol/L)	7.07 ± 0.79 ^a	7.22 ± 0.48 ^a	7.67 ± 1.19 ^{a, c}	8.89 ± 0.63 ^b	8.44 ± 0.89 ^{b, c}
CT (mmol/L)	1.89 ± 0.22 ^a	1.52 ± 0.16 ^b	1.67 ± 0.25 ^b	1.36 ± 0.16 ^c	1.33 ± 0.15 ^c
OF (mmol/L)	0.71 ± 0.10 ^a	0.42 ± 0.12 ^b	0.48 ± 0.10 ^b	0.23 ± 0.15 ^c	0.13 ± 0.12 ^c
HDL (mmol/L)	1.18 ± 0.16 ^a	1.10 ± 0.13 ^a	1.19 ± 0.19 ^a	1.13 ± 0.17 ^a	1.20 ± 0.10 ^a
T (mmol/L)	0.57 ± 0.14 ^a	0.56 ± 0.15 ^a	0.57 ± 0.13 ^a	0.55 ± 0.10 ^a	0.57 ± 0.09 ^a
CK (U/L)	1579.28 ± 300.95 ^a	1658.13 ± 271.50 ^a	762.73 ± 240.24 ^{b, c}	703.82 ± 265.47 ^b	1099.13 ± 229.09 ^c
LDH (U/L)	334.17 ± 84.00 ^a	153.77 ± 61.54 ^b	307.12 ± 74.59 ^a	229.20 ± 71.55 ^{a, b}	251.14 ± 105.37 ^{a, b}
PON (U/L)	88.88 ± 10.54 ^a	86.00 ± 09.91 ^a	86.82 ± 15.54 ^a	95.00 ± 09.37 ^a	94.00 ± 10.40 ^a
Catalase (U/L)	26.90 ± 25.44 ^a	32.43 ± 14.45 ^a	39.76 ± 25.88 ^a	22.84 ± 13.42 ^a	14.10 ± 23.12 ^a
ST (U/L)	255.09 ±	269.16 ±	258.58 ±	234.50 ±	267.01 ±

	38.45 ^a	32.73 ^a	37.43 ^a	31.15 ^a	28.83 ^a
SL (U/L)	60.61 ± 2.23 ^a	58.89 ± 4.69 ^a	61.04 ± 3.68 ^a	53.22 ± 4.43 ^b	50.91 ± 2.47 ^b

Os resultados estão expressos em média ± desvio padrão.*Letras diferentes significam diferença estatística na coluna para um nível de significância $p \leq 0.05$. Proteínas Totais (PT); Colesterol Total (CT); Outras Frações (OF); Triglicérides (T); Sulfidrilas Totais (ST); Sulfidrilas Livres (SL).

Nos nossos estudos apresentados na tabela 1, observa-se um aumento significativo na concentração de proteínas dos grupos T30', T120' e T240' quando comparados com o grupo de animais sedentários, um aumento da atividade da fosfatase alcalina no grupo T120' em relação ao grupo sedentário e ao grupo T30', uma diminuição da atividade da AST no grupo T30' em relação aos grupos T120' e T240', mas que não difere dos grupos sedentário e T60'. Na atividade da ALT houve um aumento no grupo de T240' quando comparado ao grupo sedentário, mas que não difere dos demais grupos. Foi observada uma diferença significativa na creatinina com um aumento no grupo T60' em relação ao grupo sedentário, sendo iguais as concentrações dos demais grupos e a uréia teve um aumento da concentração no grupo T120' em relação aos grupos, sedentário, T30' e T60'. Houve uma diminuição significativa colesterol total em todos os grupos que treinaram e a diminuição foi mais pronunciada nos grupos T120' e T240' quando comparados ao grupo de animais sedentários. Já nas demais frações do colesterol (VLDL e LDL), observa-se uma diminuição significativa e gradativa de acordo com o aumento do volume da atividade física nos grupos T30', T60', T120' e T240', quando comparados ao grupo de animais sedentários. Na concentração de HDL e de triglicérides não foi observada diferença estatística entre os grupos. Na atividade de CK houve uma diminuição significativa nos grupos T60', T120' e T240' em relação aos grupos sedentário e ao grupo de T30' e nos resultados de LDH observamos uma diminuição significativa no grupo T30' quando comparado ao grupo sedentário e ao grupo T60', Na atividade de paraoxonase, catalase e sulfidrilas total, não houve diferença significativa entre os grupos. Na concentração de sulfidrilas livre pode ser observada uma diminuição significativa. nos grupos T120' e T240' em relação aos demais.

DISCUSSÃO

Estudo realizado (Tonon *et al.*, (2001), em ratos que receberam dieta normoprotéica não constataram aumento nas concentrações de proteínas. Pauli *et al.*, (2003), descreveram que a atividade física moderada por tempo prolongado, contribui com uma maior necessidade de proteínas do que em uma atividade intensa e conseqüentemente implica em maiores valores nas concentrações de uréia. A razão do aumento da atividade fosfatase alcalina ainda é desconhecida, mas de acordo com Melo *et al.*, (2004), a fosfatase alcalina, em estudos feitos com humanos durante a atividade de marcha, tem sua atividade elevada, sendo esta um marcador da síntese óssea durante a prática de atividade física. Em experimentos realizados por Thomassian *et al.*, (2007), constatou-se que a atividade de AST é menos elevada em animais com melhor condicionamento físico, dados estes que são diferentes dos nossos. Já Weigand *et al.*, (2007) mesmo tendo desenvolvido um experimento de exaustão física, onde afirma que esta enzima é usada para avaliar o condicionamento físico de animais que pratica exercício, também não observou aumento na atividade dessa enzima. Outros trabalhos também afirmam que a prática de exercícios físicos extenuantes eleva em até três vezes a AST, mas de acordo com estudos de Thomassian *et al.*, (2007), ela volta a seus valores semelhantes ao repouso em 30 minutos após a realização do exercício, o que é contrário aos nossos resultados. A ALT tem uma liberação na corrente sanguínea cerca de 3 a 4 dias após a lesão e que retorna a seus valores normais após 2 semanas. De acordo com Spinosa *et al.*, (1999), o aumento desta enzima está relacionado com o número de células envolvidas, e não com a gravidade da lesão.

A creatinina, por ser um produto da degradação da creatina fosfato nos músculos, é geralmente produzida em uma taxa praticamente constante pelo corpo durante a prática da atividade física, principalmente em atividades de longa duração. Seu aumento leva à conclusão de que há uma degradação da fosfocreatina muscular devido ao esforço físico. No nosso experimento pode ser observado que mesmo com o aumento do volume da atividade de natação houve um aumento somente no volume de 60 minutos, o que nos leva a compreender que o nosso protocolo da atividade de natação não levou prejuízos à função renal, mas causou adaptações metabólicas favoráveis aos animais. Em relação a uréia pode ser observado que seu aumento acompanha o aumento da degradação das proteínas musculares, aumentando a concentração de proteínas plasmáticas como fonte de energia. Litvinova *et al.*, (1989), afirmam em seus estudos que os exercícios de natação causam um aumento significativo nos níveis de uréia e na excreção urinária. De acordo com seus estudos, uma atividade de natação com duração de 30 minutos retorna aos seus valores normais de uréia após 24 horas. Porém nosso estudo difere do autor citado acima, já que o nosso protocolo utilizou volumes mais altos com duração de 120 e 240 minutos e mesmo que o sacrifício ocorra 72h após a última sessão de treinamento os níveis de uréia continuam aumentados.

Em estudos que envolvem a atividade física, foi observado que trinta minutos diário já são suficientes para se ter uma melhora, tanto no condicionamento físico como nos parâmetros bioquímicos. Nosso experimento corrobora os dados de Prado *et al.*, (2002), obtidos em humanos, em que o efeito de uma atividade física de baixa intensidade ou moderada constitui fator importante para a melhora dos níveis de colesterol e suas subfrações. Moghadasian (2001), afirma que a lipoproteína de alta densidade (HDL) em ratos prevalece em valores elevados, portanto o rato é uma espécie resistente à aterosclerose, provavelmente devido ao alto nível HDL, transportadora de colesterol plasmático; por isso não houve diferença significativa dos valores de HDL entre os grupos. A atividade física mostrou-se eficiente na redução dos níveis do colesterol VLDL e LDL. Prado *et al.*, (2002), mostraram que o efeito da atividade física reside no melhor funcionamento dos processos envolvidos no perfil lipídico, ou seja, no aumento da atividade enzimática da lipase lipoprotéica, que favorece um maior catabolismo das lipoproteínas, formando menos partículas de LDL. Alguns fatores relevantes podem interferir no metabolismo dos triglicerídeos. Belmonte *et al.*, (2005), afirma que a atividade física com baixa intensidade contribui pouco para o total de triglicerídeos oxidados e sua contribuição intramuscular para o total de energia é muito pequena, depende da intensidade, para que tenha uma diminuição significativa, como a duração e o nível de treinamento. Bestetti *et al.*, (1984), relatam que os níveis plasmáticos de triglicerídeos diminuem principalmente em atividade vigorosa.

Sotiriadou *et al.*, (2003), em experimentos com ratas, observaram uma diminuição da CK juntamente com a desidrogenase láctica (LDH) 72 horas após a última sessão de exercício. A atividade de CK está relacionada com a LDH, essas enzimas possuem indicação de integridade da membrana celular, que por sua vez está relacionada com a formação do lactato, que também não teve aumento, dados estes também confirmados com os nossos. Além disso, afirmam que essa diminuição da CK é atribuída à infiltração de células fagocíticas devido à utilização de fêmeas no experimento sugerindo que o estrógeno desempenha um importante papel em manter maior estabilidade da membrana, reduzindo a resposta inflamatória pós-exercício e exercendo efeito sobre o tecido muscular esquelético e atenuando danos no processo durante o exercício.

A LDH cataliza o último passo da glicólise, onde acontece a redução do piruvato a lactato, (Lehninger, 2002), promovendo a formação do lactato. A atividade física realizada, natação, por ser uma atividade moderada, não levou a uma produção de lactato suficiente para alterar a atividade de LDH, dados estes confirmados pelos nossos resultados obtidos na medição do lactato.

Paraoxonase (PON) é uma proteína associada principalmente com lipoproteína de alta densidade (HDL), que é transportada pela apolipoproteína A-1 (apoA -1) e participa na

prevenção da oxidação da lipoproteína de baixa densidade (LDL) Reddy *et al.*, (2001), acredita-se que proteja contra eventos aterogênicos além de proteger HDL de peroxidação e, assim, melhora o transporte reverso do colesterol, (Oda. *et al.*, 2001). Também é sugerido que PON proteja membranas de danos causados por radicais livres. Não houve diferença na atividade de PON, assim como não houve diferença no HDL, uma vez que o número de partículas de HDL é um fator importante e determinante dos níveis de PON; isso explica a atividade da PON. Os estudos de Zoppi *et al.*, (2003), são confirmados pelos nossos, indicando que a atividade das sulfidrilas é alterada quando há maior intensidade de esforço. Além disso, afirmam que concentrações plasmáticas de sulfidrilas totais inalteradas reforçam a hipótese de pequeno dano oxidativo. Detectaram também que um aumento na oxidação de grupamentos sulfidrilas livre no plasma, é induzido pelo treinamento físico, uma vez que os níveis baixos de estresse oxidativo são desejados como resposta adaptativa de um treinamento eficiente, Porque só nos volumes de 120` e 240` o treinamento físico é capaz de alterar o estresse oxidativo, refletindo na diminuição de sulfidrilas livre. De acordo com Schneider *et al.*, (2004) o estresse é melhor tolerado por animais treinados, o que sugere uma adaptação dos sistemas antioxidantes, levando a uma maior compreensão de nossos dados, uma vez que os animais treinados em uma atividade moderada sem sobrecarga em um tempo de 240` houve uma adaptação, não levando a um estresse oxidativo. Schneider *et al.*, (2004), afirmam que um treinamento regular prolonga a capacidade de resistência aeróbia e aumenta as defesas antioxidantes.

CONCLUSÃO

Em conclusão o presente estudo demonstrou que o efeito do treinamento em diferentes volumes sobre os parâmetros bioquímicos levou a modificações dos mesmos de forma a melhorar o condicionamento físico e o metabolismo. Dentre eles podemos destacar o perfil lipídico, pois o efeito do treinamento foi eficiente em diminuir as concentrações de colesterol total e outras frações (LDL + VLDL) a partir de 30 minutos de duração. Já a função hepática obteve uma boa resposta ao treinamento, pois mesmo sendo este prolongado, não causou nenhum dano hepático, o mesmo acontecendo com a creatinina e uréia, indicando que o protocolo da atividade de nataçao causou adaptações metabólicas favoráveis aos animais. O resultado da LDH mostra que o protocolo de treinamento também foi suficiente para promover essas adaptações metabólicas, sem implicar aumento dos antioxidantes e da creatina quinase.

REFERÊNCIAS

- 1 - AEBI H. Catalase in vitro. *Methods Enzymol* 105:121-126, 1984.
- 2 - BAUMAN A.; BULL F.; CHEY T.; CRAIG C. L.; AINSWORTH B.E.; SALLIS J. F.; BOWLES H. R.; HAGSTROMER M.; SJOSTROM M.; PRATT M.; THE IPS GROUP. The International Prevalence Study on Physical Activity: results from 20 countries. **International Journal of Behavioral Nutrition and Physical Activity**. 6:21. 2009.
- 3 - BELMONTE M.A. AOKI M. S. Triacilglicerol intramuscular: um importante substrato energético para o exercício de endurance. **Rev Bras Med Esporte**. Vol. 11. nº 2. 2005.
- 4 - BELTOWSKI J, WOJCICKA G, JAMROZ A. Differential effect of 3-hydroxy-3- methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitors on plasma paraoxonase 1 activity in the rat. **Pol J Pharmacol** 54:661-671, 2002.
- 5 - BESTETTI. R. B.; SANTOS. J. E. Influência do exercício físico aeróbico na prevenção da doença coronariana. **Rev. Saúde públ.** S. Paulo. 18:333 - 6. 1984.

- 6 - CIABATTARI O.; PAL A. D.; PAL V. D. Effects of swimming associated with diet on the anterior tibial muscle of rats: morphological and histochemical study. **Rev. Bras. Med. Esporte** – vol. 11. nº 2. 2005.
- 7 - ECKERSON HW, WYTE CM, LA DU BN. The human serum paraoxonase/arylesterase polymorphism. **Am J Hum Genet** 35:1126-1138, 1983.
- 8 - GOBATTO C.A.; SIBUYA C. Y.; AZEVEDO J. R. M.; LUCIANO E.; KOKUBUN E.; MELLO M. A. R. Caracterização da Intensidade de Exercício e do Efeito de Treinamento Físico no Modelo de Natação de Ratos Wistar. **Motriz**. vol. 7. p 57-62. 2001.
- 9 - LEHNINGER. A.L. Princípios de bioquímica. Editora *Sarvier*: São Paulo. p. 975. 2002.
- 10 - LITVINOVA L.; VIRU A.; SMIRNOVA T. Renal Urea Clearance in Normal and Adrenalectomized Rats after Exercise. **Japanese Journal of Physiology**. 39. 713-723. 1989.
- 11 - MCARDLE. W.; KATCH. F.I.; KATCH. V.L. Fisiologia do Exercício: energia. nutrição e desempenho humano. Rio de Janeiro: **Guanabara Koogan**. 1998.
- 12 - MELO M.C. N.; CARNEIRO N.B.; TOLAYMAT. N.; PAES F. N.; BITTENCOUR C.N.; SANTOS D.R.D.; SILVA L.R. Hiperfosfatemia transitória benigna na infância. **R. Ci. méd. biol.**. v3. nº1. p108-114. 2004.
- 13 - MOGHADASIAN M. H. Experimental atherosclerosis a historical overview. **Life Sciences** 70 : 855–865. 2001.
- 14 - ODA M.N.; BIELICKI J.K.; BERGER T.; FORTE T.M. Cysteine substitutions in apolipoprotein A-I primary structure modulate paraoxonase activity. **Biochemistry**. 13;40(6):1710-8. 2001.
- 15 - PAULI J.R.; JÚNIOR J.C.R.; ANTUNES D.F.R.; ELIETE L.E. Treinamento físico e administração de insulina:efeitos sobre o metabolismo de carboidratos e proteínas. **Motriz**. v.9. n.2. p. 73 - 77. 2003.
- 16 - PRADO E.S.; DANTAS E.H.M. Efeitos dos Exercícios Físicos Aeróbico e de Força nas Lipoproteínas HDL. LDL e Lipoproteína. **Arq Bras Cardiol**. v79 nº 4. 429-33. 2002.
- 17 - REDDY. S.T.; WADLEIGH D.J.; GRIJALVA V.; NG C.; HAMA S.; GANGOPADHYAY A.; SHIH D.M.; LUSIS A.J.; NAVAB M.; FOGELMAN A.M. Human Paraoxonase-3 Is an HDL-Associated Enzyme With Biological Activity Similar to Paraoxonase-1 Protein but Is Not Regulated by Oxidized Lipids. **Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol**. 21;542-547. 2001.
- 18 - SCHNEIDER C.D.; OLIVEIRA A.R. Radicais livres de oxigênio e exercício: mecanismos de formação e adaptação ao treinamento físico. **Rev Bras Med Esporte**. v10. nº 4. 2004.
- 19 - SEDLAK J, LINDSAY RH. Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. **Analytical Biochemistry** 25:192-205, 1968.
- 20 - SOTIRIADOU S.; KYPAROS A.; MOUGIOS V.; TRONTZOS CH.; SIDIRAS G.; MATZIARI C.H. Estrogen effect on some enzymes in female rats after downhill running. **Physiol. Res**. 52:743-748. 2003.

21 - SPINOSA H.S.; GÓRNIAC S.L.; BERNARDI M.M. Farmacologia Aplicada à Medicina Veterinária. 2. ed. Rio de Janeiro: **Guanabara-Koogan**.1999.

22 - THOMASSIAN. A.; CARVALHO. F.; WATANABE. M.J.; SILVEIRA. V.F.; ALVES. A.L.G.; HUSSNI. C.A.; NICOLETTI. J.L.M. Atividades séricas da aspartato aminotransferase, creatina quinase e lactato desidrogenase de eqüinos submetidos ao teste padrão de exercício progressivo em esteira. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**. v.44. p.183-190. 2007.

23 - TONON C.R.; MELLO M.A.R.; DIAS T.F.; ANARUMA C.A. Teor Protéico da Dieta e Crescimento Muscular em Ratos Submetidos ao Treinamento Anaeróbio. **Motriz**. Vol. 7. nº.2. p.69-74. 2001.

24 - WEIGAND K.; RIEDIGER C.; STREMMEL W.; FLECHTENMACHER C.; ENCKE J. Are heat stroke and physical exhaustion underestimated causes of acute hepatic failure? **World J Gastroenterol**; 13 (2): 306-309. 2007.

25 - www.graphpad.com

26 - ZOPPI C.C.; NETO J.A.; CATANHO F.O.; GOULART L.F.; MOURA N.M.; MACEDO D.V. Alterações em biomarcadores de estresse oxidativo, defesa antioxidante e lesão muscular em jogadores de futebol durante uma temporada competitiva. **Rev. paul. Educ. Fís.**. São Paulo. 17(2): 119-30. 2003.

Núcleo de Pesquisa em Ciências Biológicas – NUPEB.
Departamento de Alimentos. Escola de nutrição.
Universidade Federal de Ouro Preto. Campus Universitário.
Morro do Cruzeiro s/nº - 354000-000.
mesilva@enut.ufop.br.
Telefone: (31) 3559-1828.