

Respostas fisiológicas em ratos wistar submetidos ao estresse térmico durante treinamento aeróbico de natação

Universidade Estadual Paulista - UNESP — Campus de Rio Claro-SP
Instituto de Biociências – Departamento de Educação Física. (Brasil)

Vanessa Santhiago | Fabrício Azevedo Voltarelli
Adelino Sanchez Ramos da Silva | José Rodrigo Pauli
Carla Eduarda Machado Romero | Leandro Ferreira
Carlos Eduardo Polazzo Machado | José Alexandre Curiacos de Almeida Leme
Ricardo José Gomes | Arthur Rizzi Soarez | Eliete Luciano
faunesp8@yahoo.com.br

Resumo

O objetivo do presente estudo foi avaliar as variações fisiológicas decorrentes do treinamento em água fria no exercício de natação em ratos. Ratos machos da linhagem Wistar (120 dias de idade) foram separados em 3 grupos: controle sedentário (CS); treinado em água à temperatura ambiente (TATA) e treinado em água aquecida (TAA). O grupo TAA realizou 5 semanas de treinamento, 5 dias/semana, 50 min/dia na temperatura de $31 \pm 1^\circ \text{C}$. O grupo TATA efetuou o mesmo protocolo de treinamento, diferindo apenas na temperatura da água ($24 \pm 1^\circ \text{C}$). ANOVA two-way, seguida do teste "post-hoc" de Bonferroni, foram utilizados para a determinação de diferenças estatísticas entre os grupos ($p < 0,05$). Após o sacrifício, foram analisadas algumas variáveis fisiológicas e, a partir delas, pudemos verificar que o treinamento físico de natação em água à temperatura ambiente mostrou ser um fator estressante, promovendo assim, alterações importantes nos parâmetros fisiológicos avaliados.

Unitermos: Estresse. Treinamento. Natação. Metabolismo.

Abstract

The purpose of this study was to evaluate the physiological variations of the training (swimming exercise) in cold water performed by rats. Adult male Wistar rats (120 days of age) were separated into 3 groups: sedentary control (SC); trained in the cold water (TCW) and trained in the warmed water (TWW). The group TWW was submitted to 5 weeks of training, 5 days/week, 50 min/day in the temperature of $31 \pm 1^\circ \text{C}$. The group TCW performed the same protocol of training, but the water's temperature was $24 \pm 1^\circ \text{C}$. ANOVA two-way, followed by Bonferroni "post-hoc" test, were used to determination of statistical differences between groups ($p < 0.05$). After the sacrifice, some physiological variables were analyzed and we realized that the physical training of swimming in cold water showed be a stress factor, promoting important alterations in the evaluated physiological parameters.

Keywords: Stress. Training. Swimming Exercise. Metabolism.

<http://www.efdeportes.com/> Revista Digital - Buenos Aires - Año 13 - Nº 121 - Junio de 2008

1. Introdução

Inúmeras respostas podem ser geradas com a finalidade de manter o equilíbrio interno, quando um organismo é submetido a uma situação que interfira no funcionamento e manutenção de suas funções. Esse mecanismo de resposta do organismo frente a essas novas situações é conhecido como estresse¹⁶. O estresse vem sendo estudado por pesquisadores de diversas áreas, visto que a incidência de eventos que resultam neste quadro é elevado⁸.

O mecanismo de resposta ao estresse envolve, dentre outros fatores, vários sistemas fisiológicos, como o sistema nervoso autônomo simpatoadrenal, renina-angiotensina, eixo hipotálamo-hipófise-adrenais, entre outros. A ativação de um ou outro mecanismo vai depender principalmente da duração do estímulo estressor⁸. Essa variedade de fatores capazes de gerar o estresse acaba comprometendo o entendimento de seus mecanismos¹³. Konarska et al.⁷ demonstraram que o aumento nas concentrações de catecolaminas foram maiores quando os ratos foram submetidos ao exercício de natação com temperatura da água abaixo de sua temperatura corporal (aproximadamente 18°C).

Vários sistemas fisiológicos estão envolvidos na resposta ao estresse, tais como o sistema nervoso autônomo, renina-angiotensina, simpatoadrenal e eixo hipotálamo-hipófise-adrenais¹⁹. Desse modo, o estresse pode ser definido como toda resposta orgânica a fatores externos como calor, frio, exercício físico, emoções, traumatismo

etc, visando assim, a manutenção da homeostasia. Essas respostas orgânicas são dependentes da intensidade, origem e duração dos agentes estressores, de modo que estímulos de baixa intensidade e curta duração não são capazes de provocar adaptações, entretanto os de média e alta intensidade, quando bem administrados, provocam excitação, adaptação e melhora do rendimento ¹⁰.

A principal resposta endócrina, característica do estresse, é o aumento da secreção de ACTH. Entretanto, a resposta endócrina dos mamíferos ao estresse é caracterizada por alterações nas secreções de uma variedade de hormônios da hipófise anterior ²⁰.

A atividade física realizada regularmente provoca alterações morfológicas e funcionais em diversos sistemas orgânicos. Contudo, se realizada de forma inadequada, seja quanto à temperatura da água, à intensidade ou volume, número de sessões ou intervalos de descanso, o exercício físico pode resultar em um quadro de estresse e levar a alterações metabólicas no organismo.

Os estudos envolvendo adaptações metabólicas e diferentes tipos de estresse como, por exemplo, variação de temperatura da água em condições de treinamento físico são raros, principalmente no que diz respeito à atividade aeróbia. Sendo assim, torna-se clara a necessidade de estudos que envolvam diferentes níveis de estresses impostos e adaptações metabólicas durante exercício de natação em modelo animal.

2. Objetivo

O presente estudo foi delineado para analisar as possíveis variações fisiológicas decorrentes do treinamento físico realizado em água fria (temperatura inferior à corporal) em ratos Wistar submetidos ao exercício aeróbio de natação.

3. Materiais e métodos

3.1. Protocolo experimental

- Foram utilizados ratos machos adultos (120 dias), da linhagem Wistar (n=23), provenientes do Biotério Central da Unesp Campus Botucatu e mantidos no biotério do laboratório de Biodinâmica do Departamento de Educação Física da UNESP de Rio Claro.
- Durante todo o período do experimento, os animais receberam ração comercial para roedores (Purina®) e água ad libitum.
- Os animais foram mantidos em gaiolas coletivas (5 ratos por gaiola), com o controle de ciclos de luminosidade (12 horas claro/12 horas escuro) e temperatura controlada de 25° C.
- Os animais foram divididos, aleatoriamente, em 3 grupos:
- Grupo controle sedentário (CS; n= 7): não submetidos ao protocolo de treinamento físico;
- Grupo treinado em água aquecida (TAA, n=8): submetidos ao período de adaptação e treinamento físico de natação em água aquecida na temperatura de $31 \pm 1^\circ\text{C}$;
- Grupo treinado em água à temperatura ambiente (TATA, n=8): submetidos ao período de adaptação e treinamento físico de natação em água na temperatura de $24 \pm 1^\circ\text{C}$.

3.2. Protocolo de treinamento e análises bioquímicas

- Todos os animais foram adaptados ao meio líquido antes do início do experimento e consistiu em manter os animais em tanques coletivos (100cmx80cmx80cm) com água na profundidade de 50 cm à temperatura de $31 \pm 1^\circ\text{C}$ sem utilização de carga, 5 dias na semana, por um período médio diário de 30 minutos durante 1 semana, para o grupo TAA. Para o grupo TATA, a adaptação foi similar, porém, com temperatura da água à 25° C.
- A temperatura da água foi mantida entre 30° C e 32° C por ser considerada neutra em relação à temperatura corporal do rato ³.
- Os ratos foram treinados durante 5 semanas, 5 dias por semana, durante 50 minutos por dia no período da manhã. Um grupo experimental (TATA) foi treinado em água

relativamente fria com temperatura de $24^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$; O grupo TAA, por sua vez, foi treinado em água à temperatura considerada ideal para roedores ($31^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$).

- Ao final do período experimental de 6 semanas (1 semana de adaptação + 5 semanas de treinamento), os animais foram mantidos em repouso por 48 horas em relação à última sessão de treinamento e, após jejum de 24 horas, foram pesados e sacrificados por decapitação em guilhotina, seguida de coleta de sangue em tubos de ensaio de vidro, sem anticoagulante, para a avaliação de diversos parâmetros bioquímicos.
- Foi realizada laparotomia mediana para a retirada das glândulas supra-renais, as quais foram analisadas bioquimicamente. Foram, também, retirados tecido adiposo epididimal para pesagem e fígado e músculo gastrocnêmio para determinação das concentrações de proteína e de DNA.
- Para a pesagem do tecido adiposo utilizou-se balança analítica e os dados foram expressos em mg de tecido por 100 g de peso corporal.
- Efetuou-se a pesagem da glândula adrenal esquerda, pois a hipertrofia da mesma é caracterizada como uma resposta clássica ao estresse crônico. Após retirada e dissecada sobre papel filtro umedecido em solução salina, a glândula foi pesada em balança analítica e seus dados expressos em mg de tecido por 100 g de peso corporal.
- A glicose no soro foi determinada pelo método enzimático colorimétrico da glicose oxidase/peroxidase, kit Wiener Lab.⁴. Após 15 minutos de incubação em banho à 37°C , as absorbâncias das amostras e do padrão foram lidas em aparelho espectrofotômetro a 505 nm.
- As concentrações de ácidos graxos livres (AGL), foram determinadas pelo método de Rogow et al.¹⁸ modificado, conforme descrito por Nogueira et al.¹². Neste método, após a extração dos AGL através de um solvente seletivo, o extrato é tratado com nitrato de cobre formando-se um sabão de cobre. O metal, assim lavado, reage com o dietilditiocarbamato de sódio, produzindo coloração amarela, cuja intensidade é diretamente proporcional à concentração de AGL presente na amostra. As amostras foram lidas em aparelho espectrofotômetro à 435 nm.
- O hormônio do crescimento (GH) sérico foi determinado através do teste de radioimunoensaio (RIA)- Kit-Coat-A-Count da Diagnostic Products Corporation (DPC) de duplo anticorpo.
- As concentrações de proteínas totais foram obtidas pelo método proposto por Lowry et al.⁹, com posterior leitura em aparelho espectrofotômetro. Os teores de DNA foram avaliados pelo método da difenilalanina e lidos em aparelho espectrofotômetro¹. Foi determinada, também, a razão proteína/DNA do fígado, visto que esse parâmetro contribui para o entendimento do metabolismo protéico nesse órgão.
- A proteína muscular foi analisada através de amostras do músculo gastrocnêmio, que foram digeridas em 1 mL de ácido perclórico, em banho fervente, por 1 hora. Após processo de centrifugação, o sobrenadante foi separado para análise dos teores de proteína. A proteína muscular foi obtida através da técnica proposta por Lowry et al.⁹, sendo a leitura efetuada, posteriormente, em aparelho espectrofotômetro à 650 nm.
- Amostras do músculo gastrocnêmio foram digeridas em 1 mL de ácido perclórico, em banho fervente, por 1 hora. Após centrifugação, o sobrenadante foi separado para análise das concentrações de DNA. A concentração de DNA muscular foi determinada pelo método da difenilalanina e leitura espectrofotométrica à 595 nm¹.
- Foi determinada, também, a razão proteína/DNA do músculo, obtida através do valor da proteína muscular dividido pelo valor do DNA muscular, o que proporciona informações sobre a dimensão da célula.

- Depois de pesada, a glândula adrenal esquerda foi colocada em tubo de ensaio contendo 100 µl de KOH à 30%, onde foi realizada a extração. O colesterol da adrenal foi determinado através do método enzimático/colorimétrico (kit Labtest) e leitura espectrofotométrica à 540 nm.

3.3. Análise estatística

Os dados do presente estudo foram expressos na forma de média±desvio padrão. ANOVA two-way, seguida do teste "post-hoc" de Bonferroni, foram utilizados para a determinação de diferenças estatísticas entre os grupos. O nível de significância foi pré-estabelecido em 5%.

4. Resultados

Os resultados obtidos neste estudo sugerem que ratos treinados em água a diferentes temperaturas apresentam respostas fisiológicas diferentes entre si e em relação a um grupo não treinado.

Após aplicação de análise de variância (ANOVA) nos resultados obtidos, constatamos que o colesterol da adrenal foi significativamente maior no grupo TATA ($23,85 \pm 4,18$ mg/%), comparado com TAA e CS ($19,14 \pm 3,18$ mg/% e $18,42 \pm 3,90$ mg/%), respectivamente. O colesterol da adrenal foi significativamente menor no grupo CS ($1,26 \pm 0,2$ mg/%), comparado aos grupos TATA e TAA ($1,60 \pm 0,25$ mg/% e $1,56 \pm 0,30$ mg/%), respectivamente. Os parâmetros adrenal, AGL, glicemia, gordura epididimal e GH não apresentaram diferenças estatisticamente significativas entre os grupos. Vale ressaltar que para o índice glicemia, houve forte tendência em ser significativa a diferença encontrada entre os grupos.

A proteína hepática foi significativamente maior no TAA e CS ($0,083 \pm 0,017$ mg/100mg e $0,083 \pm 0,017$ mg/100mg), comparado ao TATA ($0,063 \pm 0,01$ mg/100mg). Os parâmetros DNA hepático, razão proteína/DNA, proteína muscular, DNA muscular e razão proteína/DNA não se mostraram estatisticamente diferentes. Novamente, um dos índices analisados (proteína hepática) apresentou forte tendência em ser diferente estatisticamente, como podemos observar através do nível de significância apresentado juntamente com os valores médios na tabela 2.

Tabela 1. Parâmetros avaliados no soro e nos tecidos dos ratos controle sedentário (CS), treinados em água à temperatura ambiente (TATA) e treinados em água aquecida (TAA) ao final do experimento.

	TATA	TAA	CS
Adrenal (mg/%)	$23,85 \pm 4,18$ *	$19,14 \pm 3,18$	$18,42 \pm 3,90$
AGL (mEq/L)	$99,91 \pm 44,6$	$129,61 \pm 52,41$	$137,50 \pm 45,8$
Colesterol da Adrenal (mg %)	$1,60 \pm 0,25$	$1,56 \pm 0,30$	$1,26 \pm 0,2$ #
Glicemia (mg/dL)	$98,1 \pm 8,56$	$92,42 \pm 10,62$	$104,32 \pm 9,88$
Gordura Epididimal (mg/100g peso corporal)	$2,01 \pm 0,54$	$2,22 \pm 0,51$	$2,32 \pm 1,06$
GH (ng/ml)	$2,59 \pm 0,78$	$2,38 \pm 1,22$	$2,85 \pm 0,69$

Os resultados estão expressos como média ± DP.

* Diferença significativa ($p < 0,05$) em relação ao TAA e CS.

Diferença significativa ($p < 0,05$) em relação ao TATA e TAA.

Tabela 2. Parâmetros avaliados no fígado e músculo gastrocnêmio dos ratos controle sedentário (CS), treinados em água à temperatura ambiente (TATA) e treinados em água aquecida (TAA) ao final do experimento.

	TATA	TAA	CS
Proteína Hepática (mg/100mg)	$0,063 \pm 0,01$	$0,083 \pm 0,017^*$	$0,083 \pm 0,017^*$

DNA Hepático (mg/100mg)	0,066 ± 0,012	0,08 ± 0,018	0,083 ± 0,017
Proteína /DNA (Hepática)	0,95 ± 0,05	1,03 ± 0,01	1,00 ± 0,01
Proteína Muscular (mg/100mg)	2,69 ± 0,44	2,72 ± 0,3	2,68 ± 0,41
DNA muscular (mg/100mg)	0,019 ± 0,003	0,021 ± 0,003	0,021 ± 0,007
Proteína / DNA (Muscular)	147,37 ± 30,23	130,64 ± 23,08	136,59 ± 46,65

Os resultados estão expressos como média ± DP.
* significância pré-fixada para $p < 0,05$ em relação ao TATA

5. Discussão

Inúmeras respostas podem ser geradas, com a finalidade de manter o equilíbrio interno, quando um organismo é submetido a uma situação que interfira no funcionamento e manutenção de suas funções. Essas novas situações que perturbam o equilíbrio interno do organismo são conhecidas como estresse.

A água relativamente fria expõe os ratos ao estresse térmico e induz ajustes metabólicos e cardiovasculares diferentes daqueles observados na água mais quente. Essas respostas adaptativas servem, principalmente, para manter uma temperatura central estável através de compensações para o considerável fluxo de calor proveniente do corpo. Particularmente, com temperaturas da água inferiores a 25° C, a perda de calor corporal ocorre mais freqüentemente em organismos com menor quantidade de gordura subcutânea¹⁴. De Madel et al.¹¹ comparou o nado em diferentes temperaturas da água em humanos (18°C, 26°C e 33°C) e observou que as maiores captações de oxigênio ocorriam na água mais fria. Este custo energético excessivo na água fria é resultado principalmente da energia gasta nos calafrios, quando o corpo tenta regular a temperatura central.

O objetivo deste estudo foi avaliar as possíveis variações fisiológicas decorrentes do treinamento físico em água fria (temperatura ambiente \cong 23°C) no exercício de natação em ratos Wistar. A necessidade da manutenção da homeostase ativa vários sistemas que podem atuar ao mesmo tempo e/ou sinergicamente. Uma das respostas do organismo ao agente estressor é a hipertrofia das adrenais. Essa resposta, via sistema endócrino, ocorre pela ativação do eixo Hipotálamo-Hipófise-Adrenais e é um mecanismo lento. Na análise da adrenal das amostras do presente estudo foi encontrada hipertrofia da mesma nos ratos treinados em água à temperatura ambiente (tabela 1), sugerindo que a manutenção da temperatura corporal se deu através da produção de calor decorrente, em parte, da ação dos hormônios "calorigênicos" da medula supra-renal (adrenalina e noradrenalina). Apesar da diferença encontrada, esta não foi estatisticamente significativa. Talvez o período de treinamento tenha sido insuficiente para provocar uma hipertrofia mais acentuada das adrenais do grupo TAA em relação aos outros dois. Possivelmente, o número reduzido de amostras contribuiu para a ausência de diferenças estatisticamente significativas entre os grupos do presente estudo.

Os hormônios adrenérgicos têm, como característica, um efeito termogênico, visto que os receptores adrenérgicos β_3 têm como função a lipólise e a termogênese e, com isso, estimula a liberação de AGL na corrente sanguínea. Além disso, os receptores adrenérgicos β_2 são responsáveis por tremores (calafrios) na musculatura esquelética em humanos¹⁵.

Essa maior necessidade de energia pode gerar menor disponibilidade de gordura epididimal. No presente estudo, esta resposta tendeu a ser encontrada no grupo treinado em água à temperatura ambiente como resposta ao estresse, porém não apresentou diferença estatisticamente significativa entre os grupos treinado em água à temperatura ambiente, treinado em água à temperatura aquecida e controle sedentário, respectivamente (2,01 ± 0,54; 2,22 ± 0,51; 2,32 ± 1,06 mg/100g de peso corporal). Constatamos, ainda, que o treinamento físico não interferiu de maneira significativa sobre as reservas adiposas dos animais tendo em vista a

semelhança da quantidade de tecido adiposo epididimal entre os grupos.

Os resultados mostraram uma maior concentração de colesterol (mg/%) nos grupos treinados em relação ao grupo controle (TAA $1,56 \pm 0,30$; TATA $1,60 \pm 0,25$; CS $1,26 \pm 0,2$). O colesterol das glândulas adrenais serve como parâmetro relacionado à síntese dos hormônios glicocorticóides e pode apresentar modificações decorrentes da realização do exercício físico¹⁷.

O treinamento de endurance induz rápido aumento dos transportadores de glicose "GLUT 4" no músculo decorrente da translocação desses transportadores para a membrana celular⁵. Isso proporciona uma maior captação de glicose pelas células aumentando as reservas energéticas de glicogênio muscular¹⁷. Este fato pode justificar as menores concentrações médias de glicose sanguínea nos grupos treinados e a sua tendência de diferença em relação ao grupo controle.

Outra forma de adaptação ao exercício diz respeito às proteínas musculares que, em alguns casos, apresentam-se aumentadas, sendo esse aumento devido a uma maior estimulação da síntese protéica ou menor mobilização das proteínas¹⁶. Como resposta ao treinamento, a musculatura pode apresentar hipertrofia ou hiperplasia, que pode ser indiretamente determinada pelo conteúdo de proteínas musculares e pela razão proteína/DNA muscular. A medida de proteína e DNA tem sido utilizada por alguns autores para determinar as respostas adaptativas do músculo ao exercício. No estudo de Gonçalves e Luciano², utilizando protocolo de natação, foi observado aumento de proteína na musculatura de ratos submetidos a um treinamento de 4 semanas. Já no estudo de Luciano e Mello¹⁰, o treinamento aeróbio de natação, com carga correspondente a 2% do peso corporal, não causou qualquer modificação nas reservas protéicas musculares após 30 dias de atividade. No presente estudo, não foi utilizada carga adicional para nenhum grupo e a diferença de temperatura da água, após 5 semanas de atividade, não foi suficiente para apresentar alteração nas reservas de proteína muscular (TAA $2,69 \pm 0,44$; TATA $2,72 \pm 0,3$; CS $2,68 \pm 0,41$ mg/100mg). Em relação ao DNA muscular, o grupo treinado em água à temperatura ambiente teve um menor valor médio, porém essa diferença não foi estatisticamente significativa em relação aos outros dois grupos. A razão proteína/DNA também não mostrou diferença entre os grupos estudados.

O metabolismo protéico depende, dentre outros fatores, da liberação de GH. Os níveis de GH podem ser influenciados pela atividade física e por outras situações de estresse, como a temperatura da água. No presente estudo, as diferenças encontradas entre os grupos não foram significativas.

A ausência de diferenças significativas entre esses fatores (proteína e DNA musculares e hepáticos, razão proteína/DNA e GH), pode estar relacionada à falta de estímulo suficiente do treinamento físico, bem como a temperatura da água, para promover a estimulação de síntese protéica.

Rogatto e Luciano¹⁷ utilizaram o peso fresco da glândula adrenal como indicativo da presença de estresse crônico. Os mesmos autores mostraram, ainda, que ratos submetidos ao treinamento de natação em alta intensidade apresentaram maior hipertrofia da glândula adrenal, mesmo após o fim do período de treinamento, em relação ao grupo controle. O aumento da massa e/ou incremento da área total ou seletiva das camadas adrenais, se deve à estimulação crônica do córtex supra-renal, pela ação do ACTH, que pode gerar adaptações sobre esta glândula, fazendo com que se apresente hipertrofiada⁶. No presente estudo, também observamos aumento da massa da glândula adrenal dos ratos treinados em água fria quando comparados aos animais controles. Desse modo, verificamos que o exercício físico de natação, realizado em ambiente moderadamente frio, mesmo sem utilização de sobrecarga, constituiu-se num importante agente estressor aos animais.

Considerando os aspectos abordados na literatura constata-se que as respostas endócrino-metabólicas ao exercício físico, enfocando parâmetros relacionados ao aumento das reservas protéicas ou a relação dessas adaptações com o mecanismo de estresse, são raras e contraditórias. Desta forma, sugere-se a necessidade de estudos futuros enfocando as respostas ao treinamento físico de natação, sob diferentes temperaturas, utilizando-se modelo animal.

6. Conclusão

A partir dos resultados obtidos no presente estudo, podemos concluir que as estimulações externas provocadas nos animais submetidos ao exercício de natação sem adição de carga, por meio de diferentes temperaturas de água, não foram suficientes para provocar alterações significativas em alguns parâmetros

fisiológicos e metabólicos gerais, em especial, no metabolismo protéico.

Referências bibliograficas

1. Giles KW, Myers A. An improved diphenylamine method for the estimation of deoxyribonucleic acid. *Nature*. 1965; 206: 93.
2. Gonçalves AL, Luciano E. Efeitos da atividade física sobre as respostas inflamatórias crônicas em ratos wistar. *Rev Bras Ciência e Mov*. 1999; 142.
3. Harri M, Kuusela P. Is swimming exercise or cold exposure for rats. *Acta Physiol Scand*. 1986; 126: 189-197.
4. Henry RJ, Cannon DC, Wilkeman J. *Clinical chemistry principles and techniques*. 2 ed. New York: Harper and Harper Row Publishes, 1974.
5. Host HH, Hansen PA, Nolte LA, Chen MM, Holloszy JO. Rapid reversal of adaptive increases in muscle GLUT-4 and glucose transport capacity after training cessation. *J App Physiol*. 1998; 84: 798-802.
6. Kjer M. Adrenal medulla and exercise training. *Eur J Appl Physiol*. 1998; 77: 195-199.
7. Konarska M, Stewart RE, Mccarty R. Habituation and sensitization of plasma catecholamine responses to chronic intermittent stress: effects of stressor intensity. *Physiol Behav*. 1990; 47: 647-652.
8. Lipp MEN (Org) *Pesquisa sobre stress no Brasil. Saúde, ocupações e grupos de risco*. Campinas: Papiros, 1996.
9. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RT. Protein measurement with the folinphenol reagent. *J Biolog Chem*. 1951; 193: 265-275.
10. Luciano E, Mello MAR. Atividade física e metabolismo de proteínas em músculos de ratos diabéticos experimentais. *Rev Paul Educ Fís*. 1999; 12: 202-209.
11. Mcardle WD, Katch FI, Katch VL. *Exercise Physiology: energy, nutrition and human performance*. 1º ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1991.
12. Nogueira DM, Strufaldi B, Hirata MH, Abdalla DSP, Hirata RDC. *Métodos de bioquímica clínica: técnicas e interpretação*. 1º ed. São Paulo: Pancast, 1990.
13. Orth DM, Kovacs WJ, Debold RD. The adrenal cortex. In: Wilson JD, Foster DW. *Willians textbook of endocrinology*. 8 ed. Philadelphia: WD Saunders, 1992: 489 - 620.
14. Pauli JR, Silva ASR, Voltarelli FA, Ferreira L, Santhiago V, Romero CEM, Machado CEP, Leme JAC, Gomes RJ, Soarez AR, Luciano E. Efeitos do Treinamento físico em água moderadamente fria sobre os parâmetros fisiológicos de ratos durante o exercício de natação. *Rev Logos*. 2003; 1: 78-83.
15. Rang HP, Dale,MM, Ritter JM. *Farmacologia*. 1º ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001.
16. Rogatto GP (2001) Efeitos do treinamento físico de alta intensidade sobre aspectos endócrino-metabólicos de ratos wistar. Dissertação Apresentada ao Instituto de Biociências do Campus de Rio Claro Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências da motricidade, área de Motricidade Humana (metabolismo e exercício).
17. Rogatto GP, Luciano E. Efeitos do treinamento físico intenso sobre o metabolismo de carboidratos. *Rev Bras Ativid Fís Saúde*. 2001; 6: 39-46.
18. Rogow BJM, Cornelissem PJH, Helder RAP, Spijkers JBF, Weeber YMN. Specific determination of free fat acid in plasma. *Clin Chem Acta*. 1971; 31: 187-195.
19. Sothmann MS, Hart BA, Horn TS. Exercise training and cross-stressor adaptation hypothesis. *Exer Sports Sci Reviews*. 1996; 24: 267-287.
20. Souza EB, Appel M. Determination of brain and pituitary receptors involved in mediating stress responses. In: Brow MR, Koob GF, Rivier C. *Stress, neurobiology and neuroendocrinology*. New York: Dekker, 1991.

Agradecimentos

Os autores agradecem a Clarice Y. Sibuya, José Roberto R. da Silva e Eduardo Custódio pelo excelente suporte técnico e pela indispensável colaboração na coleta de dados. Agradecemos também à CAPES, à Fapesp, ao CNPq e à Fundunesp pelo apoio financeiro.