

LUCAS DANTAS MAIA FORTE

**VALIDADE E REPRODUTIBILIDADE DO PROTOCOLO DE DUPLOS ESFORÇOS
NÃO-EXAUSTIVOS (DENE) PARA AVALIAÇÃO AERÓBIA**

LIMEIRA

2013

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

FACULDADE DE CIÊNCIAS APLICADAS

Programa de Ciências da Nutrição, Esporte e Metabolismo

LUCAS DANTAS MAIA FORTE

**VALIDADE E REPRODUTIBILIDADE DO PROTOCOLO DE DUPLOS ESFORÇOS
NÃO-EXAUSTIVOS (DENE) PARA AVALIAÇÃO AERÓBIA**

Dissertação de mestrado apresentada na Faculdade de Ciências Aplicadas – UNICAMP, campus Limeira, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciências da Nutrição e do Esporte e Metabolismo, na área de Biodinâmica do Movimento Humano e Esporte.

Orientador: Prof. Dr. Claudio Alexandre Gobatto

ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO FINAL DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO DEFENDIDA PELO ALUNO LUCAS DANTAS MAIA FORTE E ORIENTADA PELO PROF. DR. CLAUDIO ALEXANDRE GOBATTO.

Prof. Dr. Claudio Alexandre Gobatto

Limeira

2013

FICHA CATALOGRÁFICA
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca da Faculdade de Ciências Aplicadas
Sueli Ferreira Júlio de Oliveira - CRB 8/2380

Forte, Lucas Dantas Maia, 1988-
F776v Validade e reprodutibilidade do protocolo de duplos esforços não-exaustivos (DENE) para avaliação aeróbia / Lucas Dantas Maia Forte. – Campinas, SP : [s.n.], 2013.

Orientador: Claudio Alexandre Gobatto.
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Ciências Aplicadas.

1. Limiar anaeróbio. I. Gobatto, Claudio Alexandre. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Aplicadas. III. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em outro idioma: Validity and reliability of the non-exhaustive double effort protocol (NEDE) for aerobic evaluation

Palavras-chave em inglês:

Anaerobic threshold

Área de concentração: Biodinâmica do Movimento Humano e Esporte

Titulação: Mestre em Ciências da Nutrição e do Esporte e Metabolismo

Banca examinadora:

Claudio Alexandre Gobatto [Orientador]

Roberta Cunha Rodrigues

Rodrigues, Roberta Cunha

Marcelo Papoti

Papoti, Marcelo

Data de defesa: 25-10-2013

Programa de Pós-Graduação: Ciências da Nutrição e do Esporte e Metabolismo

FOLHA DE APROVAÇÃO

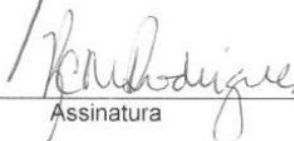
BANCA EXAMINADORA

Membros Titulares:

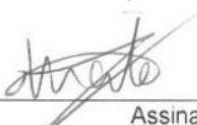
Prof. Dr. Claudio Alexandre Gobatto (Orientador)


Assinatura

Profa. Dra. Roberta Cunha


Assinatura

Prof(a). Dr. Marcelo Papoti


Assinatura

“Se vi mais longe, foi por estar de pé
sobre os ombros de gigantes”.

Isaac Newton (1676)

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer primeiramente a minha mãe, dona Riolene Dantas Maia, a mulher da minha vida, que me apoiou e incentivou em todos os passos. Que pulou de alegria a cada conquista minha. E que mesmo com o “coração na mão” por ver seu único filho ir pra longe, o incentivou a alcançar seus objetivos. Muito obrigado mainha!

Aos meus amigos de João Pessoa, todos eles sem dúvida e exceção, mas um agradecimento em especial a: Otto Guedes, Djalma Pupara e Alfredo Selva, que vibraram e torceram por mim a cada passo a frente que eu dava.

A minha namorada, Weskla Barbosa, que me aturou de perto e de longe, que me apoiou em minhas decisões, por mais difíceis que estas fossem pra ela.

Ao meu orientador de iniciação científica, e grande amigo, Claudio Meireles, que possibilitou o vínculo com o LAFAP, me “apadrinhou” e torceu por mim tanto quanto eu torci por mim mesmo. Espero poder retribuir todos os ensinamentos, e a amizade que me deu.

Ao meu orientador, Claudio Alexandre Gobatto, que mesmo quando tinha TUDO para não aceitar um aluno que acabara de chegar em seu laboratório, apostou as fichas nele, teve a paciência e a tolerância para com as minhas falhas, sempre me motivando a dar o próximo passo. Também outro grande amigo o qual eu espero retribuir todo o crescimento científico que me foi proporcionado e a amizade que foi concedida.

Mencionar meus amigos e colegas da Paraíba e não falar dos parceiros de São Paulo seria uma injustiça. Quero agradecer imensamente aos meus colegas do LAFAP: Beck, Filipe, Ivan, Luiz, Pedro, Homero, Leonardo, Wiliam, Priscila, Carol e a professora Fulvia de Barros. Todos de alguma forma contribuíram para minha formação profissional, e principalmente, pessoal. O medo que tinha de não me adaptar à mudança de vida foi completamente “nocauteado” por esse pessoal.

Obrigado!

LISTA DE ABREVIATURAS

CO_2 – Gás carbônico

CV – Coeficiente de variação

DENE – Duplos esforços não-exaustivos

DENE_{LAC} - Duplos esforços não-exaustivos predito por lactacidemia

$\text{DENE}_{\text{VO}_2}$ - Duplos esforços não-exaustivos predito por consumo de oxigênio

DENE_{FC} - Duplos esforços não-exaustivos predito por frequência cardíaca

DENE-1 – Primeiro teste de duplos esforços não-exaustivos

DENE-2 – Reteste de duplos esforços não-exaustivos

FC – Frequência cardíaca

ICC – Coeficiente de correlação intraclasse

iDENE – Intensidade dos duplos esforços não-exaustivos

iMFEL – Intensidade da máxima fase estável de lactato

LV1 – Limiar ventilatório 1

LV2 – Limiar ventilatório 2

MFEL – Máxima fase estável de lactato

O_2 – Oxigênio

VCO_2 – Produção de gás carbônico

VE/VCO_2 – Equivalente ventilatório de gás carbônico

VE/VO_2 – Equivalente ventilatório de oxigênio

VO_2 – Consumo de oxigênio

$\text{VO}_{2\text{max}}$ – Consumo máximo de oxigênio

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Valores em média $\pm$ desvio padrão (DP) dos parâmetros aeróbios obtidos a partir do protocolo em rampa individualizado.

Tabela 2 – Valores em média $\pm$ desvio padrão (DP) da iDENE determinada em teste e reteste pelos parâmetros de lactato sanguíneo, consumo de oxigênio e frequência cardíaca.

Tabela 3 - Valores em média $\pm$ desvio padrão (DP) dos coeficientes de determinação das retas de regressão do protocolo de duplos esforços não-exaustivos (DENE) em teste (DENE-1) e reteste (DENE-2) determinados pelos parâmetros de lactato sanguíneo, consumo de oxigênio e frequência cardíaca.

Tabela 4 - Média $\pm$ DP das intensidades (em km/h) do $DENE_{LAC,VO2,FC}$, LV1, LV2 e MFEL.

Tabela 5 - Valores do coeficiente de correlação intraclass (ICC) e do coeficiente de variação (CV) para o teste e reteste do $DENE_{LAC,VO2,FC}$.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Exemplo do cálculo do *score* no IPAQ para um indivíduo que realiza 30min de cada tipo de atividade (caminhada, moderada e vigorosa intensidade) durante cinco dias na semana.

Figura 2 – Exemplo do tratamento dos dados brutos (**A**) em média móvel a cada 15 pontos (**B**) e determinação do consumo máximo de oxigênio (VO_{2max}).

Figura 3 – Exemplo da determinação dos limiares ventilatórios 1 e 2 a partir dos equivalentes ventilatórios (VE/VO_2 e VE/VCO_2).

Figura 4 – Determinação da MFEL e intensidade da MFEL (iMFEL) para um dos voluntários, onde $\Delta = 13,2$ km/h representa a maior intensidade em que ocorreu estabilização de lactato sanguíneo.

Figura 5 – Ilustração representativa de um duplo esforço realizado sob mesma intensidade e com as variáveis fisiológicas de lactato sanguíneo, consumo de oxigênio e frequência cardíaca aferidas ao final de cada esforço de 3 min.

Figura 6 – Determinação da intensidade de DENE (iDENE) por meio da regressão linear, onde o intercepto-y representa a intensidade de delta nulo para as variáveis fisiológicas de lactato sanguíneo (**A**); consumo de oxigênio (**B**); frequência cardíaca (**C**).

Figura 7 – **A** = Respostas individuais dos voluntários ($n = 19$) da concentração sanguínea de lactato em função do tempo sob intensidade de máxima fase estável de lactato (iMFEL); **B** = Respostas individuais sob intensidade 0,5 km/h acima da iMFEL.

Figura 8 – **A** = Resposta em média da concentração sanguínea de lactato dos voluntários ($n = 19$) em função do tempo sob intensidade de máxima fase estável de lactato (iMFEL); **B** = Resposta em média sob intensidade 0,5 km/h acima da iMFEL.

Figura 9 – Respostas fisiológicas de lactato sanguíneo (**A**), consumo de oxigênio (**B**) e frequência cardíaca (**C**) durante um teste de duplo esforço sob intensidade de 11 km/h de um dos indivíduos.

Figura 10 – Representação gráfica dos valores de média $\pm$ DP das intensidades obtidas pelos diferentes protocolos ($DENE_{LAC,VO_2,FC}$, LV1, LV2 e MFEL).

Figura 11 – Testes de correlação produto-momento de Pearson entre VO_{2max} (expresso em ml/kg/min) e LV1 expresso em km/h (**A**) e em ml/kg/min (**B**).

Figura 12 – Testes de correlação produto-momento de Pearson entre VO_{2max} (expresso em ml/kg/min) e LV2 expresso em km/h (**A**) e em ml/kg/min (**B**).

Figura 13 – Testes de correlação produto-momento de Pearson entre VO_{2max} vs iMFEL (**A**); VO_{2max} vs MFEL (**B**); e MFEL vs iMFEL (**C**).

Figura 14 – Testes de correlação produto-momento de Pearson entre VO_{2max} vs DENE determinado pelo lactato sanguíneo (**A**), VO_2 (**B**) e FC (**C**).

Figura 15 – Plots de Bland & Altman para testar a reprodutibilidade do protocolo de duplos esforços não-exaustivos (DENE) determinado pelas variáveis de lactato sanguíneo (**A**), consumo de oxigênio (**B**) e frequência cardíaca (**C**).

SUMÁRIO

RESUMO

ABSTRACT

1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVOS	5
2.1. Objetivo Geral.....	5
2.2. Objetivos Específicos	5
3. MÉTODOS	6
3.1 Amostra	6
3.2 Delineamento do estudo	6
3.3 International physical activity questionnaire (IPAQ)	7
3.4 Protocolo em rampa	9
3.4.1 Consumo máximo de oxigênio (VO_{2max})	9
3.4.2 Limiares Ventilatórios	10
3.5 Máxima fase estável de lactato (MFEL)	11
3.6 Duplos esforços não-exaustivos (DENE)	12
3.7 Análise sanguínea de lactato	15
3.8 Análise estatística.....	16
4. RESULTADOS	17
4.1 Protocolo em rampa individualizado (LV1, LV2 e VO_{2max}).....	17
4.2 Máxima fase estável de lactato (MFEL).....	18
4.3 Duplos esforços não-exaustivos (DENE)	20
4.4 Comparação e correlação entre as velocidades obtidas em diferentes metodologias	23
4.5 Reprodutibilidade do DENE.....	27
5. DISCUSSÃO	29
5.1 Protocolo de rampa individualizado em esteira motorizada	29
5.2 Parâmetros aeróbios (LV1, LV2 e MFEL)	31

5.3 Correlações entre VO_{2max} e Limiares (LV1, LV2, MFEL)	33
5.4 Teste de duplos esforços não-exaustivos (DENE)	35
5.4.1 <i>Comparação com outros métodos</i>	36
5.4.2 <i>Reprodutibilidade do DENE</i>	39
6. CONCLUSÃO	41
7. IMPLICAÇÕES PRÁTICAS	42
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	43
ANEXOS	
ANEXO 1 – TERMO DE COMPROMISSO LIVRE E ESCLARECIDO	
ANEXO 2 – PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA	
ANEXO 3 – INTERNATIONAL PHYSICAL ACTIVITY QUESTIONNAIRE	
(IPAQ)	
ANEXO 4 – CONFIRMAÇÃO DE SUBMISSÃO DE ARTIGO	
ANEXO 5 – ARTIGO	

RESUMO

Desde sua concepção, os fenômenos dos limiares anaeróbios ganharam grande atenção das ciências do esporte e da saúde como uma importante ferramenta na avaliação e prescrição de treinamento aeróbio. Diversos protocolos foram desenvolvidos para se determinar os limiares 1 e 2. Contudo, tais protocolos são compostos por esforços de alta intensidade e/ou longa duração. Em 1986, um protocolo composto por duplos esforços não-exaustivos (DENE) que possivelmente determinaria uma das zonas de transição metabólica (limiar 1 ou 2) foi proposto, porém pouco estudado. Assim, os objetivos da presente pesquisa foram de: 1) Determinar as intensidades do DENE (iDENE) por meio de análises de lactato sanguíneo, consumo de oxigênio (VO_2) e frequência cardíaca (FC) ($\text{DENE}_{\text{LAC},\text{VO}_2,\text{FC}}$); 2) Comparar os valores de velocidade preditos pelo $\text{DENE}_{\text{LAC},\text{VO}_2,\text{FC}}$ com as encontradas pela máxima fase estável de lactato (MFEL), limiar ventilatório 1 e 2 (LV1 e LV2); 3) Correlacionar as intensidades preditas pelos protocolos estudados; 4) Verificar a reprodutibilidade do $\text{DENE}_{\text{LAC},\text{VO}_2,\text{FC}}$ por meio de procedimento de teste e reteste. Para tanto, 19 voluntários do sexo masculino, saudáveis e moderadamente ativos realizaram quatro testes para a determinação dos limiares dentro de duas a três semanas. Após as medidas antropométricas, os voluntários assinaram o termo de compromisso livre e esclarecido e preencheram o *international physical activity questionnaire* (IPAQ) para sua classificação mínima como “moderadamente ativos”. Em seguida, os voluntários realizaram o protocolo em rampa individualizado para a determinação do LV1, LV2 e consumo máximo de oxigênio ($\text{VO}_{2\text{max}}$). Os limiares foram determinados por análise visual dos equivalentes ventilatórios 1 e 2 (VE/VO_2 e VE/VCO_2) e o $\text{VO}_{2\text{max}}$ foi obtido pelo maior valor de consumo de oxigênio durante o teste. A MFEL foi determinada por meio de testes de cargas retangulares com duração de 30min em diferentes dias, sendo considerada como a maior intensidade na qual se observou estabilização do lactato sanguíneo nos últimos 20min de teste. O teste de DENE foi composto por quatro aplicações de duplos esforços, cada um realizado sob diferentes intensidades. A intensidade do DENE (iDENE) foi determinada pelo intercepto-y de uma regressão linear entre a diferença das variáveis fisiológicas (lactato, VO_2 e FC) do primeiro e do segundo esforço com as velocidades de cada duplo esforço. Os valores em média $\pm$ DP das intensidades de LV1, LV2, MFEL foram respectivamente: $10,22 \pm 0,97$, $12,59 \pm 0,94$ e $12,13 \pm 1,21$. Os valores das iDENE determinados pelo lactato, VO_2 e FC foram de: $10,54 \pm 1,45$, $10,71 \pm 1,30$, $9,79 \pm 1,96$ respectivamente. O ANOVA apontou diferenças estatísticas entre o $\text{iDENE}_{\text{LAC},\text{VO}_2,\text{FC}}$ e LV1 comparados à MFEL e LV2 ($p < 0,05$). Não foi identificado diferenças significativas entre a $\text{iDENE}_{\text{LAC},\text{VO}_2,\text{FC}}$ e o LV1 ($p > 0,05$). O DENE predito pelas três variáveis fisiológicas (lactato VO_2 e FC) foi estatisticamente correlacionado com o LV1 e a MFEL. A $\text{iDENE}_{\text{LAC},\text{VO}_2,\text{FC}}$ apresentaram bons índices de correlação intraclasse (0,87, 0,49 e 0,66 respectivamente) e de coeficiente de variação (5,1, 9,0 e 11,7 respectivamente). Além disso, os valores das diferenças das velocidades do teste e reteste do DENE estiveram dentro do limite de concordância nos *plots* de Bland & Altman. Estes resultados sugerem que o protocolo de DENE realizado por meio das três variáveis fisiológicas abordadas (lactato, VO_2 e FC), é um procedimento de boa reprodutibilidade e capaz de estimar o primeiro limiar ventilatório.

ABSTRACT

Since its conception, the phenomena of anaerobic threshold gained wide attention from sports and health sciences as an important tool on assessment and prescription of aerobic training. Several protocols have been developed to determine the thresholds 1 and 2. However, such protocols are composed of high intensity and/or long term efforts. In 1986, a protocol consisting of non-exhaustive double efforts (DENE) that possibly determine one of the metabolic transition zones (threshold 1 or 2) was proposed, but little studied. Thus, the objectives of this research were to: 1) determine the DENE intensities ($iDENE$) through analysis of blood lactate, oxygen uptake (VO_2) and heart rate (FC) ($DENE_{LAC, VO_2, HR}$), 2) Compare the values speed predicted by $DENE_{LAC, VO_2, FC}$ with those found by the maximum lactate steady state (MFEL), ventilatory threshold 1 and 2 (LV1 and LV2), 3) correlate the intensities predicted by the protocols studied, 4) Verify the reproducibility of $DENE_{LAC, VO_2, FC}$ through test-retest procedure. To this end, 19 male subjects, healthy and moderately active realized four tests to determine the thresholds within two to three weeks. After anthropometric measurements, the volunteers signed an informed consent form and completed the International Physical Activity Questionnaire (IPAQ) to their minimum rating as "moderately active". Then, the volunteers performed an individualized ramp protocol for the determination of LV1, LV2 and maximal oxygen uptake (VO_{2max}). The thresholds were determined by visual analysis of ventilatory equivalents 1 and 2 (VE/VO_2 and VE/VCO_2) and VO_{2max} was obtained at the higher oxygen consumption during the test. The MFEL was determined by testing with constant loads lasting 30 minutes on different days. It was taken as the highest intensity where the stabilization of lactate in the last 20 minutes of the test was observed. The test DENE was composed by four double efforts applications each performed at different intensities. The $iDENE$ was determined by the intercept-y of a linear regression between the difference of physiological variables (lactate, VO_2 and FC) of the first and second efforts with the speeds of each double effort. The mean $\pm$ SD values of intensities of LV1, LV2 and MFEL were respectively: 10.22 ± 0.97 , 12.59 ± 0.94 and 12.13 ± 1.21 . The values of $iDENE$ determined by lactate, VO_2 and FC were: 10.54 ± 1.45 , 10.71 ± 1.30 , 9.79 ± 1.96 respectively. The ANOVA showed significant differences between the $iDENE_{LAC, VO_2, FC}$ and LV1 compared to LV2 and MFEL ($p < 0.05$). No significant difference was identified between the $iDENE_{LAC, VO_2, FC}$ and LV1 ($p > 0.05$). The DENE predicted by the three physiological variables (lactate VO_2 and FC) were statistically correlated with the LV1 and MFEL. The $iDENE_{LAC, VO_2, FC}$ showed good intraclass correlation coefficients (0.87, 0.49 and 0.66 respectively) and coefficient of variation (5.1, 9.0 and 11.7 respectively). Moreover, the values of the differences of velocities of DENE test and retest were within the limits of agreement in the Bland & Altman plots. These results suggest that the protocol DENE performed by means of the three physiological addressed (lactate, VO_2 and FC) is a reliable procedure of good reproducibility and capable of estimating the first ventilatory threshold.

1. INTRODUÇÃO

Dentre os mais importantes parâmetros fisiológicos para a avaliação da performance aeróbia, estão os limiares anaeróbios 1 e 2, os quais definem as intensidades de exercício relativas ao início e fim do que é conhecido como zona de transição metabólica aeróbia-anaeróbia, dentro do domínio intenso (DEKERLE et al., 2003; KINDERMANN et al., 1979). Apesar de a literatura tratar dos mesmos fenômenos fisiológicos, observamos uma forte confusão com relação ao conceito destes dois parâmetros, sendo estes nomeados por diferentes autores como: limiar aeróbio (limiar 1) (KINDERMANN et al., 1979), limiar anaeróbio (limiar 1) (MATSUMURA et al., 1983; WASSERMAN, 2002), limiar de lactato (limiar 1) (FAUDE et al., 2009; SID-ALI et al., 1991), ponto de compensação respiratória (limiar 2) (DEKERLE et al., 2003; TANEHATA et al., 1999), máxima fase estável de lactato (limiar 2) (BENEKE et al., 2000; BILLAT et al., 2003), dentre outros (SVEDAHL e MACINTOSH, 2003). Assim sendo, para fins didáticos, na presente pesquisa os parâmetros determinantes da zona de transição metabólica serão tratados como limiares anaeróbios 1 e 2.

Dos métodos para se determinar o primeiro limiar anaeróbio, a análise de trocas gasosas é sem dúvida o mais abordado na literatura. Sendo que o primeiro aumento desproporcional da ventilação em relação ao consumo de oxigênio (VO_2) durante um teste de cargas incrementais (DEKERLE et al., 2003) ou em rampa (MATSUMURA et al., 1983), caracteriza o limiar anaeróbio 1, ou como o chamaremos daqui por diante: limiar ventilatório 1 (LV1). Em intensidades superiores ao LV1, um segundo aumento desproporcional da ventilação em relação ao VCO_2 indica o final da zona de transição metabólica, aqui chamada de limiar ventilatório 2 (LV2).

O primeiro limiar ventilatório tem sido largamente utilizado no âmbito clínico como forma de avaliar a função cardíaca de pacientes com diferentes doenças endócrino-metabólicas (WASSERMAN, 2002). Não obstante, o LV1 pode ser utilizado para prescrição de treinamento visando reabilitação desta população (AOIKE et al., 2012; DENIS et al., 1982; SULLIVAN et al., 1989). Apesar de corresponder a uma intensidade de esforço relativamente baixa em comparação ao LV2, o exercício crônico realizado sob a intensidade do LV1 é capaz de gerar adaptações fisiológicas positivas não apenas na capacidade aeróbia, mas também sobre o estado clínico destes

pacientes (MATSUMURA et al., 1983; WASSERMAN, 2002). Como parâmetro avaliativo, além de ser utilizado no âmbito desportivo como forma de avaliação da performance aeróbia de atletas (LENTI et al., 2011; PEDRO et al., 2013), o LV1 é uma importante ferramenta na determinação da capacidade funcional cardiorrespiratória de indivíduos portadores de doenças cardiovasculares (MATSUMURA et al., 1983), podendo inclusive ser utilizado como um parâmetro de risco de mortalidade, classificando os pacientes com maior urgência de intervenções cirúrgicas (GITT et al., 2002; OLDER et al., 1999; OLDER et al., 1993).

Por outro lado, mais utilizado nas ciências do esporte, o segundo limiar anaeróbio pode ser determinado por diversos parâmetros fisiológicos além do método ventilatório. Dentre estes, os que fazem uso de dosagem de lactato sanguíneo predominam na literatura (FAUDE et al., 2009; HECK et al., 1985; JONES e DOUST, 1998). Em esforços de baixa a moderada intensidade, observamos um aumento proporcional da lactacidemia sanguínea, indicando um aumento da participação anaeróbia para a demanda energética. No caso de intensidades até próximas ao LV2, observa-se uma subsequente estabilização desta variável (BENEKE, 2003a;2003b; DEKERLE et al., 2003). Consequentemente, um estado de equilíbrio fisiológico é alcançado, possibilitando a manutenção do exercício por períodos prolongados (BARON et al., 2003; ROBERGS et al., 2004). Acima do LV2, a participação anaeróbia é exacerbada, o que desencadeia a perda da homeostase de diversas variáveis fisiológicas, induzindo ao estado de hiperventilação por acidose láctica e consequentemente, levando o indivíduo à fadiga por não manter a adequada produção de ATP, dada a demanda necessária (ROBERGS et al., 2004). Com base nestes preceitos ora abordados, o teste da máxima fase estável de lactato (MFEL) foi desenvolvido com o objetivo de se determinar a maior intensidade em que ocorre equilíbrio dinâmico entre a produção e remoção do lactato sanguíneo, durante esforços de cargas retangulares e com duração entre 20 e 30 minutos (BENEKE, 2003b; BILLAT et al., 2003).

Considerando a robustez do protocolo da MFEL, este é tido como teste padrão ouro na determinação da capacidade aeróbia, sendo amplamente utilizado na avaliação de performance aeróbia e prescrição de treinamento em atletas (BENEKE, 2003b; BENEKE et al., 2000; BILLAT et al., 2001). Todavia, apesar de confiável, o teste da

MFEL apresenta algumas dificuldades com relação a sua aplicação prática, visto que sua realização demanda vários dias de testes, nos quais o indivíduo realiza esforços de longa duração, que variam de moderada a alta intensidades. Neste aspecto, diversos trabalhos têm se dedicado a estabelecer adaptações de protocolos que estimem a MFEL com precisão e em poucas sessões de avaliação (BILLAT et al., 1994; JONES et al., 1998; MANCHADO-GOBATTO et al., 2011; TEGTBUR et al., 1993). Protocolos como o teste do lactato mínimo (JONES et al., 1998; TEGTBUR et al., 1993), *Onset of blood lactate accumulation* (OBLA) (HECK et al., 1985) e Limiar anaeróbio individual (MCLELLAN e JACOBS, 1993; STEGMANN et al., 1981) são capazes de estimar (com precisão variável) em apenas um dia de teste, a MFEL. No entanto, apesar da redução do tempo necessário para a determinação do segundo limiar anaeróbio, tais procedimentos requerem esforços de longa duração e/ou alta intensidade, o que ainda dificulta sua aplicação prática no esporte, e principalmente, no meio clínico onde estes esforços podem representar um perigo para a população portadora de doenças cardiovasculares (SMITH et al., 2009).

Neste sentido, um interessante método foi proposto em 1986 por Chassain, (CHASSAIN, 1986), baseado em duplos esforços não-exaustivos (DENE) com duração de 3 min cada. A partir de análises de lactato sanguíneo e frequência cardíaca (FC), ele determinou uma intensidade em que a resposta destas variáveis provenientes do primeiro esforço, se equivalessem às do segundo, indicando assim uma intensidade de equilíbrio fisiológico. Considerando os fundamentos fisiológicos do LV1, LV2 e MFEL, é possível crer que a intensidade predita pelo DENE, como proposto em 1986, pode estar próxima das estimadas por algum destes protocolos, os quais são os mais utilizados na literatura das ciências da saúde e do esporte. Entretanto, se tal intensidade estaria mais próxima do limiar 1, ou do limiar 2, isto não foi descrito em seu trabalho (CHASSAIN, 1986).

Poucos estudos compararam procedimentos bem estabelecidos na literatura para a determinação dos limiares anaeróbios com adaptações do protocolo de DENE (BILLAT et al., 1994; MANCHADO-GOBATTO et al., 2011; MANCHADO et al., 2006; SID-ALI et al., 1991). Apesar de não utilizarem a mesma relação de esforço/pausa sugeridos por Chassain, estes estudos encontraram boas correlações entre os protocolos estudados,

sugerindo assim, que as bases fisiológicas do DENE de fato, podem indicar um dos dois limiares anaeróbios.

Considerando que o método proposto por CHASSAIN (1986) não é composto por esforços nem de longa duração ou alta intensidade, este pode ser uma interessante abordagem para avaliação aeróbia de atletas ou até mesmo indivíduos praticantes de atividade física ocupacional, uma vez que este teste pode ser aplicado como forma de aquecimento previamente às sessões de treino. Mais ainda, para pacientes com diferentes doenças metabólicas, este procedimento não induziria acidose, hiperventilação ou exacerbadas elevações da FC e de outras respostas fisiológicas que poderiam representar um risco para estes indivíduos (SMITH et al., 2009; WASSERMAN e WHIPP, 1975). Apesar disso, não existe na literatura nenhum trabalho que tenha atestado a validade e a confiabilidade do protocolo de DENE, exatamente como proposto por Chassain em 1986.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

De acordo com o que foi abordado anteriormente, o objetivo da presente pesquisa foi verificar a validade e a reprodutibilidade do protocolo de duplos esforços não-exaustivos DENE (estimado pela lactacidemia, VO_2 e FC).

2.2 Objetivos específicos

- Determinar as intensidades do DENE por meio de análises de lactato sanguíneo, consumo de oxigênio e frequência cardíaca ($DENE_{LAC,VO_2,FC}$).
- Comparar os valores de velocidade preditos pelo $DENE_{LAC,VO_2,FC}$ com as encontradas pela MFEL, VT1 e VT2.
- Correlacionar as intensidades preditas pelos protocolos estudados.
- Verificar reprodutibilidade do $DENE_{LAC,VO_2,FC}$ por meio de procedimento de teste e reteste.

3. MÉTODOS

3.1 Amostra

Dezenove indivíduos do sexo masculino, saudáveis e moderadamente ativos (idade $22,1 \pm 3,1$ anos, altura $178,1 \pm 6,3$ cm, massa corporal $75,1 \pm 9,5$ kg e percentual de gordura de $10,5 \pm 4,6\%$) participaram do presente estudo. Todos os participantes foram informados dos benefícios e riscos da presente pesquisa e assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido (ANEXO 1) o qual foi previamente aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos das Faculdades Integradas Einstein de Limeira, protocolo nº: 12-03-184 (ANEXO 2).

Para a determinação da densidade corporal foi utilizado o protocolo de sete dobras cutâneas proposto por JACKSON e POLLOCK (1978). Em seguida os valores de densidade corporal foram aplicados à equação de SIRI (1993) para estimação do percentual de gordura corporal.

Os voluntários responderam ao *International Physical Activity Questionnaire* (IPAQ) (ANEXO 3) no qual o *score* mínimo suficiente para classificá-los como “moderadamente ativo” foi utilizado como critério de inclusão.

3.2 Delineamento do estudo

Durante todo o estudo, os voluntários foram instruídos a manter os mesmos hábitos nutricionais, evitar exercícios de alta intensidade, ingestão de cafeína ou qualquer outro tipo de substância ergogênica durante o período de 24h que antecederam os testes. Todos os testes foram realizados em esteira ergométrica (Super ATL, Imbrasport, Brasil,) em ambiente de laboratório com condições ambientais de temperatura e umidade relativa do ar controladas ($22 \pm 1,7$ °C e $50 \pm 2,1\%$ respectivamente).

Após a realização das medidas antropométricas, os voluntários realizaram o protocolo em rampa individualizado (MYERS et al., 1992) para a determinação do VT1, VT2 e VO_{2max} . Em seguida, os próximos testes (MFEL, DENE-1 e DENE-2) foram realizados em ordem aleatória. Todos os voluntários completaram os testes no período de 2 a 3 semanas.

3.3 International Physical Activity Questionnaire (IPAQ)

Para classificar os voluntários quanto ao seu nível de atividade física, foi utilizado a forma curta do IPAQ (ANEXO 3) validado para população brasileira (HALLAL e VICTORA, 2004). Esta versão é composta por seis questões relativas às atividades físicas diárias do indivíduo durante uma semana habitual, levando em consideração o tempo gasto (em dias, horas e minutos) durante atividades de caminhada, de moderada e de intensidade vigorosa.

Utilizando o compêndio de atividade física proposto por AINSWORTH et al. (2000), os valores em minutos/semana foram convertidos em equivalentes metabólicos/minuto/semana (MET/minuto/semana) multiplicando os minutos semanais pelo equivalente em METs para cada atividade (caminhada = 3,3; intensidade moderada = 4,0; intensidade vigorosa = 8,0). Desta forma, o *score* foi calculado por meio da soma dos MET/min/semana em cada atividade (ver Figura 1)

Cálculo do *Score* do IPAQ (forma curta):

MET/min/semana para 30min/dia, 5 dias

$$3,3 \times 30 \times 5 = 495 \text{ MET/min/semana}$$

$$4,0 \times 30 \times 5 = 600 \text{ MET/min/semana}$$

$$8,0 \times 30 \times 5 = 1200 \text{ MET/min/semana}$$

$$\text{TOTAL} = 2.295 \text{ MET/min/semana}$$

Figura 1. Exemplo do cálculo do *score* no IPAQ para um indivíduo que realiza 30min de cada tipo de atividade (caminhada, moderada e vigorosa intensidade) durante cinco dias na semana.

Por fim, a classificação do indivíduo quanto ao seu nível de atividade física se dá de acordo com os seguintes critérios:

Pouco ativo:

- Nenhuma atividade reportada ou,

- Alguma atividade é reportada, mas não suficiente para se enquadrar nas categorias: moderadamente ou muito ativo.

Moderadamente ativo:

Qualquer um dos três seguintes critérios:

- Três ou mais dias de atividade vigorosa de pelo menos 20min por dia ou,
- Cinco ou mais dias de atividade de moderada intensidade e ou caminhada de pelo menos 30min por dia ou,
- Cinco ou mais dias de qualquer combinação de caminhada, atividade de moderada ou vigorosa intensidade alcançando o valor mínimo de 600 MET/min/semana.

Muito ativo:

Qualquer um dos dois seguintes critérios:

- Atividade vigorosa pelo menos três dias na semana e acúmulo de ao menos 1.500 MET/min/semana ou,
- Sete ou mais dias de qualquer combinação de caminhada, atividade moderada ou vigorosa acumulando ao menos 3.000 MET/min/semana.

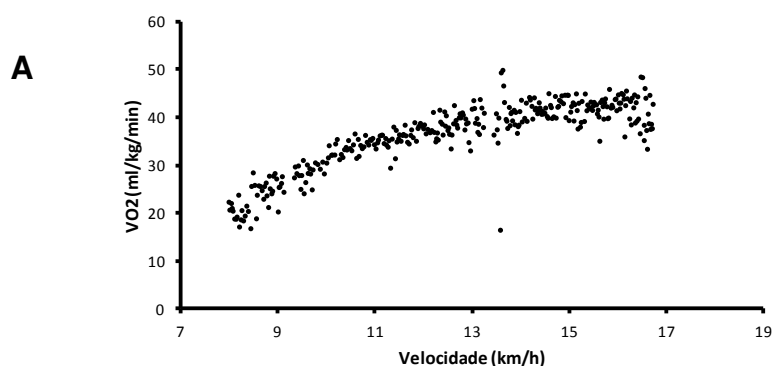
3.4 Protocolo em Rampa

Após 5 minutos de aquecimento a 7km/h, iniciou-se o protocolo em rampa individualizado em esteira com inclinação fixada em 0%, velocidade inicial de 8 km/h e aumento constante da velocidade em uma taxa que variou entre 0,7 e 1 km/h/min. O cálculo da taxa de incremento da velocidade foi realizado de acordo com o proposto por MYERS et al. (1992) a partir de: 1) predição do consumo máximo de oxigênio (VO_{2max}); 2) cálculo da velocidade relativa ao VO_{2max} e 3) um tempo de duração do teste estimado em 10min. Todos os cálculos foram realizados com base nas fórmulas sugeridas pelo AMERICAN COLLEGE OF SPORTS MEDICINE (1991) por meio do programa da esteira ergométrica. Durante todo o teste, a frequência cardíaca, ventilação e a concentração dos gases expirados foram continuamente mensuradas por meio do analisador de gases K4b² (Cosmed, Italy) integrado ao sistema online de captação de dados *breath-by-breath* o qual foi previamente calibrado em cada dia de teste. O final do teste foi definido por um ou mais dos seguintes critérios: 1) alcance do plateau do VO_2 (aumento menor que 1,5 ml/kg/min); 2) alcance da frequência cardíaca máxima predita; e/ou 3) desistência voluntária.

Os dados de VO_2 , VCO_2 , VE e os equivalentes ventilatórios de O_2 e CO_2 (VE/VO_2 e VE/VCO_2) foram processados por média móvel a cada 15 pontos, com os dados centralizados no intervalo de tempo do oitavo ponto (ver Figura 2). Este procedimento teve como objetivo reduzir cerca de 90 % do erro de variabilidade inerente a qualquer sistema de análise de gases *breath-by-breath* (ROBERGS et al., 2010).

3.4.1 Consumo máximo de oxigênio (VO_{2max})

O VO_{2max} foi considerado como o maior valor valor médio de 15 pontos obtido durante todo o teste (ROBERGS et al., 2010).



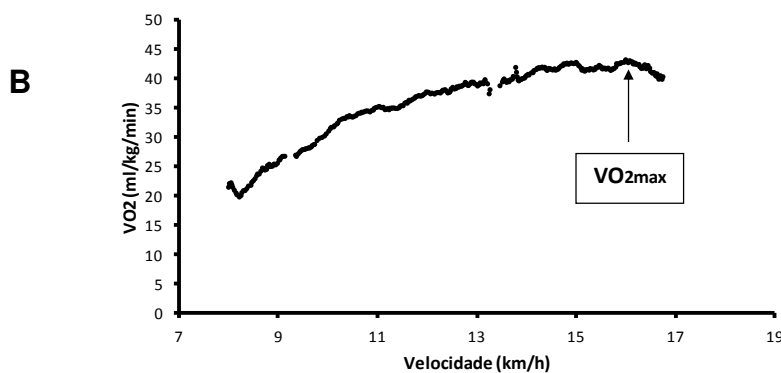


Figura 2. Exemplo do tratamento dos dados brutos (A) em média móvel a cada 15 pontos (B) e determinação do consumo máximo de oxigênio ($\text{VO}_{2\text{max}}$).

3.4.2 Limares Ventilatórios (VT1 e VT2)

O VT1 foi caracterizado como o primeiro aumento da VE/VO_2 sem o paralelo aumento da VE/VCO_2 . Enquanto que o VT2 foi determinado a partir do aumento da VE/VCO_2 ou por um segundo aumento desproporcional da VE/VO_2 (SMITH et al., 2009). A Figura 3 apresenta os dados para determinação dos Limiares ventilatórios de um dos voluntários.

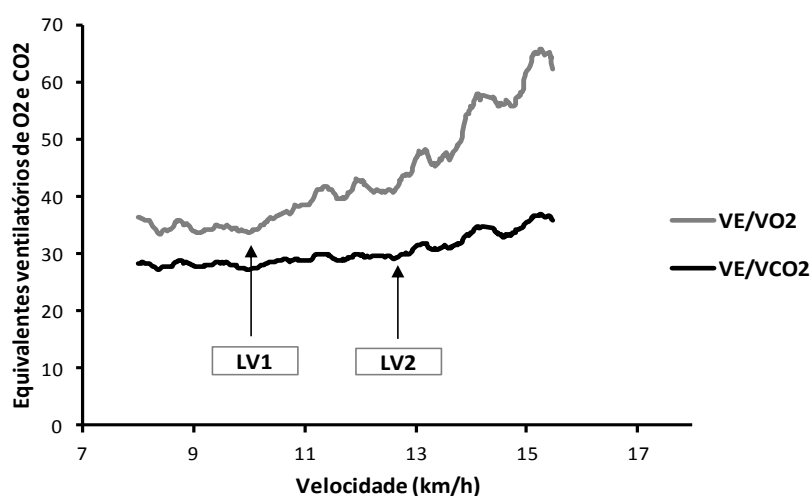


Figura 3. Exemplo da determinação dos limiares ventilatórios 1 e 2 a partir dos equivalentes ventilatórios (VE/VO_2 e VE/VCO_2).

3.5 Máxima fase estável de lactato (MFEL)

Para validação do Protocolo de duplos esforços não-exaustivos (DENE), foram realizados de dois a cinco testes de cargas retangulares com duração de 30 minutos cada em diferentes intensidades para a determinação da concentração sanguínea de lactato correspondente à MFEL. Cada um dos testes foram aplicados em dias distintos, separados por um intervalo mínimo de 48 horas entre eles.

A primeira carga foi equivalente a 100% do VT2. Em seguida, foram realizados outros testes de velocidade constante abaixo e/ou acima desta intensidade, dependendo do comportamento do lactato sanguíneo. A partir do repouso até o 30º minuto dos testes foram coletadas amostras de sangue do lóbulo da orelha nos tempos repouso, 5, 10, 15, 20, 25 e 30 minutos de exercício, para posterior análise do lactato sanguíneo e obtenção das curvas lactacidêmicas em cada intensidade. A coleta e a análise do lactato seguiram a mesma metodologia descrita no item 3.7. A intensidade de MFEL (iMFEL) foi considerada como sendo a mais alta velocidade (em Km/h) na qual se observou aumento menor ou igual a 1,0 mmol/L entre o 10º e 30º minuto de exercício (BENEKE, 2003a) (Figura 4). Além disso, com o intuito de se obter maior precisão neste protocolo, foi estipulado a diferença máxima de 0,5km/h entre a iMFEL e a próxima intensidade em que ocorreu acúmulo de lactato (> 1 mmol/L).

Com o intuito de se estabelecer idênticas condições entre procedimentos práticos abordados, durante os testes de cargas retangulares da MFEL os voluntários também utilizaram os aparatos do analisador de gases respiratórios.

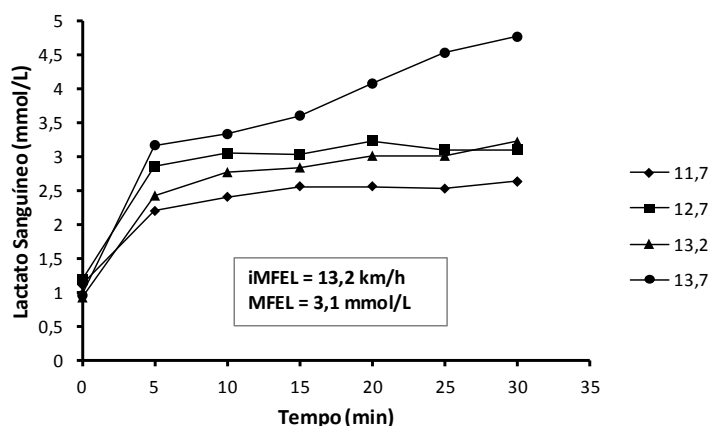


Figura 4. Determinação da MFEL e intensidade da MFEL (iMFEL) para um dos voluntários, onde $\Delta = 13,2$ km/h representa a maior intensidade em que ocorreu estabilização de lactato sanguíneo.

3.6 Duplos esforços não-exaustivos (DENE)

O protocolo de DENE consistiu de quatro duplos esforços em diferentes intensidades, dois aplicados no mesmo dia e separados por um intervalo mínimo de 60 minutos, permitindo a recuperação total dos indivíduos e garantindo que a primeira intensidade de duplos esforços não interferisse nas respostas da segunda intensidade (BILLAT et al., 1994). As outras duas intensidades foram aplicadas após o período mínimo de 24 h. Cada intensidade de duplos esforços foi composta por um primeiro esforço de 3 min, seguido por um intervalo passivo de 90 s, e um segundo esforço de 3 min sob a mesma intensidade do primeiro. Ao final dos primeiros 3 min, as variáveis fisiológicas de VO_2 -1 e FC-1 foram mensuradas pelo analisador de gases integrado a um frequencímetro. Além destas variáveis, o lactato sanguíneo também foi analisado por meio de coletas sanguíneas (LAC-1) (ver Figura 5).

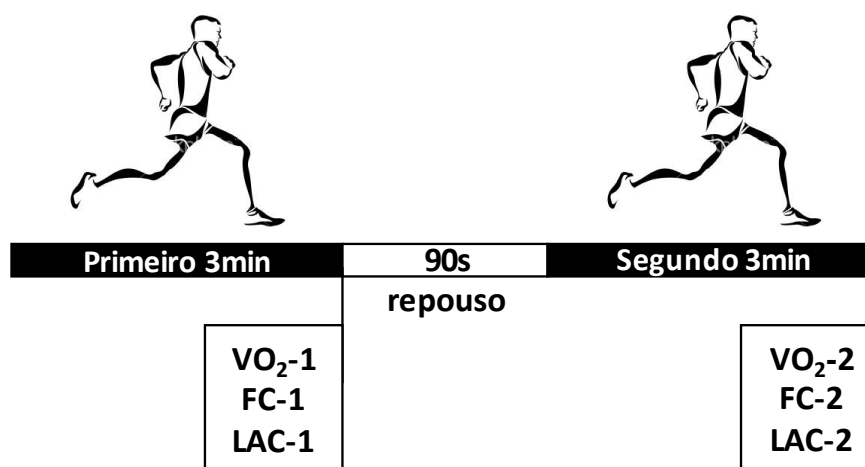


Figura 5. Ilustração representativa de um duplo esforço realizado sob mesma intensidade e com as variáveis fisiológicas de lactato sanguíneo, consumo de oxigênio e frequência cardíaca aferidas ao final de cada esforço de 3 min.

Para cada duplo esforço, foram calculados os deltas para cada variável (ΔVO_2 , ΔFC e ΔLAC) pela subtração do valor das variáveis após o segundo esforço de 3 min, do primeiro esforço (i.e. $\Delta LAC = LAC-2 - LAC-1$). Para cada intensidade, foram obtidos um ΔVO_2 , um ΔFC e um ΔLAC . As intensidades foram escolhidas para variar entre 70 % do VO_{2max} até acima do VT2. Uma regressão linear foi plotada em um gráfico com os deltas no eixo “X” e as intensidades no eixo “Y”. A intensidade predita pelos duplos

esforços não-exaustivos (iDENE) foi determinada pelo delta nulo, indicado pelo intercepto-y da regressão (Figura 6).

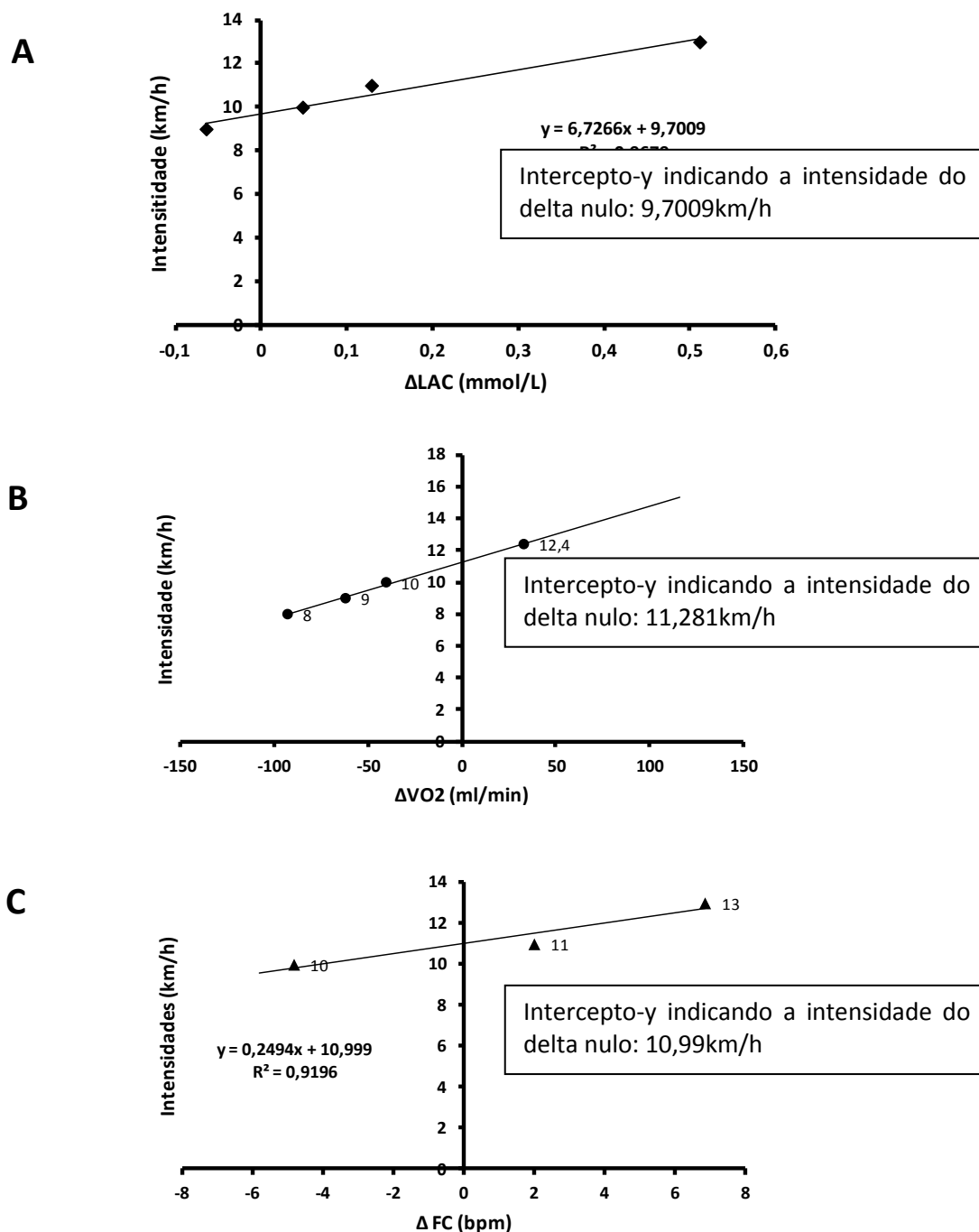


Figura 6. Determinação da intensidade de DENE (iDENE) por meio da regressão linear, onde o intercepto-y representa a intensidade de delta nulo para as variáveis fisiológicas de lactato sanguíneo (**A**); consumo de oxigênio (**B**); frequência cardíaca (**C**).

Como critério de sucesso do teste, nós consideramos o cumprimento de três pré-requisitos: 1) uma regressão linear composta por no mínimo três pontos; 2) um coeficiente de ajuste da regressão (R^2) maior ou igual a 0,7; e 3) um coeficiente angular positivo. Todos os testes que não se adequaram a qualquer um dos critérios acima citados foram excluídos das análises.

3.7. Análise sanguínea do lactato

As concentrações de lactato sanguíneo para os protocolos de DENE e MFEL foram determinadas por método enzimático. Para análise lactacidêmica foram coletadas amostras de sangue a partir da punção do lóbulo da orelha, com auxílio de lancetas de aço inoxidável descartáveis. O sangue foi coletado por meio de tubos capilares previamente heparinizados e calibrados para 25µl de sangue. O sangue foi transferido imediatamente para tubos Eppendorf de 1,5 ml contendo 400µl de solução de ácido tricloroacético a 4% (TCA) para sua desproteínização e armazenado a uma temperatura de 2 a 8 °C. Em seguida as amostras foram agitadas e centrifugadas, para posterior retirada de 100µl do sobrenadante da amostra, que foi transferida para tubos de ensaio, nos quais foram adicionados 500µl de reativo preparado a base de glicina/EDTA (estoque de glicina), Hidrazina Hidrato 33%, NAD (Beta-Nicotinamide Dinucleotide SIGMA) e LDH (L-Lactic Dehydrogenase bovine heart – 1000 units/mL SIGMA) a pH 8,85. As amostras foram agitadas e incubadas durante 20 minutos em Banho-Maria mantido a 37°C. A concentração de lactato foi medida à 340nm contra a curva de calibração (Engel & Jones, 1978). Todas as coletas foram realizadas pelo pesquisador responsável o qual possui experiência prévia para a realização de tal procedimento, seguindo todas as normas de higiene e segurança para coletas de sangue.

3.8. Análise estatística

Os dados foram expressos em média $\pm$ desvio padrão. Após atestada a normalidade dos dados por meio do teste de Shapiro-Wilk, a análise paramétrica foi aplicada. O ANOVA *one-way* para amostras repetidas foi utilizado para comparação de médias dos parâmetros obtidos (VT1, VT2, MFEL e iDENE). No caso do ANOVA apresentar diferenças estatísticas, o *post hoc* de Newman-Keuls foi aplicado para indicar a diferença entre os grupos. Para verificar a confiabilidade e reprodutibilidade do teste e reteste do DENE, foi usado o coeficiente de correlação intraclass (ICC, 2,1, modelo fixo para concordância absoluta). O erro típico foi usado para se determinar o coeficiente de variação (CV) relativo à média, como sugerido pela literatura (HOPKINS, 2000). Além destes, o *plot* proposto por BLAND e ALTMAN (1986) também foi utilizado como medida de confiabilidade. Para avaliar possíveis correlações entre os parâmetros fisiológicos mensurados, foi adotado o ICC 2,1, modelo fixo para consistência (para variáveis com mesma unidade de medida) e o coeficiente de correlação produto-momento de Pearson (para variáveis com unidades de medida diferentes). Para todas as análises, foi considerado o nível de significância de $p < 0,05$.

4. RESULTADOS

4.1. Protocolo em rampa individualizado (LV1, LV2 e VO_{2max})

A duração do protocolo em rampa variou entre 8 e 12 min para todos os testes realizados. Devido à dificuldade encontrada em se identificar o ponto de aumento inicial da VE/VO₂ ou o primeiro aumento desproporcional da VE, o primeiro limiar ventilatório (LV1) não foi determinado em um dos indivíduos (n = 18). Tanto o LV2 e o VO_{2max} foram determinados nos 19 voluntários. A Tabela 1 apresenta os valores em média ± desvio padrão do LV1, LV2 (expressos em km/h, ml/kg/min e percentual relativo ao VO_{2max}) e do VO_{2max} (ml/kg/min).

Tabela 1. Valores em média ± desvio padrão (DP) dos parâmetros aeróbios obtidos a partir do protocolo em rampa individualizado.

	LV1 (km/h)	LV1 (ml/kg/min)	LV1 (%VO _{2max})	LV2 (km/h)	LV2 (ml/kg/min)	LV2 (%VO _{2max})	VO2max (ml/kg/min)
Média	10,22	31,32	79,37	12,59	37,03	88,77	41,91
DP	0,97	8,24	8,14	0,94	3,34	7,31	4,46

LV1 = limiar ventilatório 1; LV2 = limiar ventilatório 2; VO2max = consumo máximo de oxigênio.

4.2. Máxima fase estável de lactato (MFEL)

A MFEL foi determinada em todos os voluntários ($n = 19$) a partir dos métodos acima descritos. Para a identificação da intensidade de MFEL (iMFEL) foram necessários de dois à cinco testes contínuos realizados em dias distintos.

A média $\pm$ desvio padrão da iMFEL foi de $12,13 \pm 1,21$ km/h, enquanto que a máxima fase estável de lactato foi encontrada em $3,62 \pm 1,27$ mmol/L. As Figuras 7 e 8 apresentam o comportamento do lactato sanguíneo durante a iMFEL e na intensidade 0,5km/h acima da iMFEL respectivamente em valores individuais e médios.

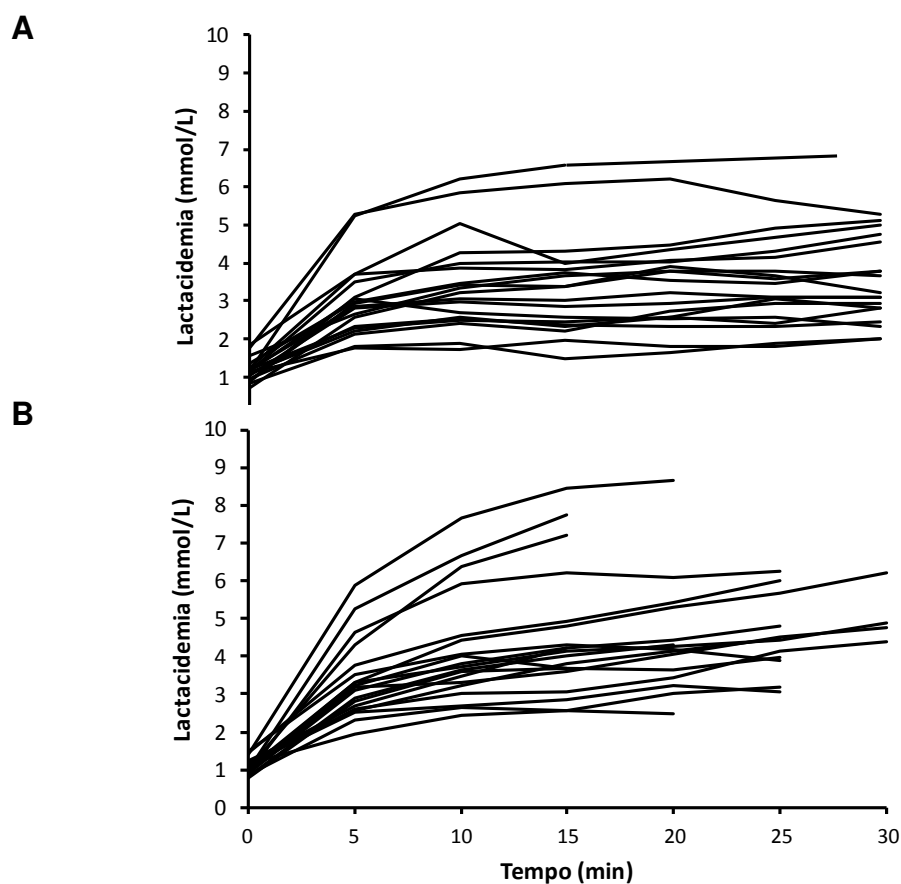


Figura 7. **A** = Respostas individuais dos voluntários ($n = 19$) da concentração sanguínea de lactato em função do tempo sob intensidade de máxima fase estável de lactato (iMFEL); **B** = Respostas individuais sob intensidade 0,5 km/h acima da iMFEL.

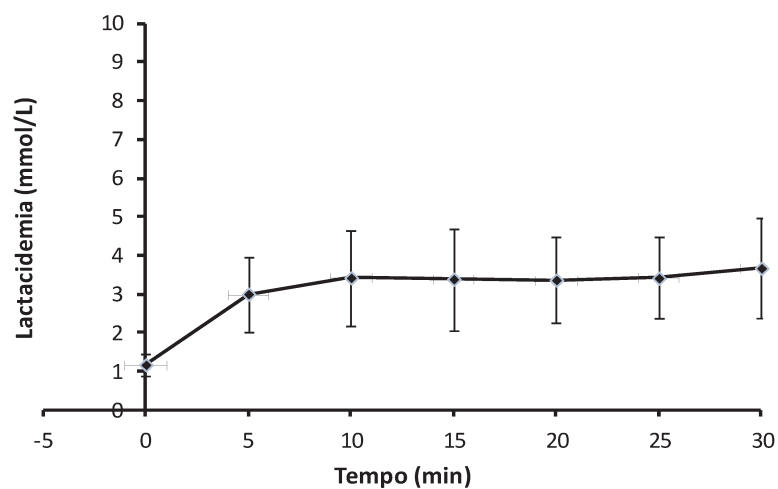
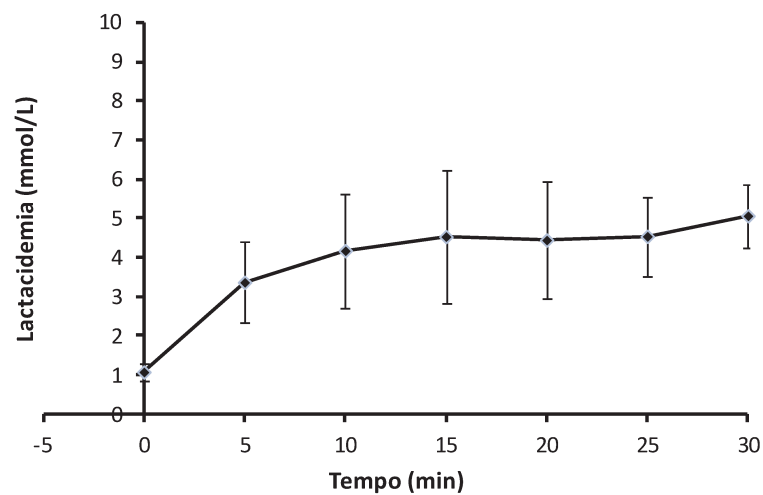
A**B**

Figura 8. Resposta em média e desvio padrão da concentração sanguínea de lactato dos voluntários ($n = 19$) em função do tempo sob intensidade de máxima fase estável de lactato (iMFEL) (**A**) e 0,5km/h acima da iMFEL (**B**).

4.3. Duplos esforços não-exaustivos (DENE)

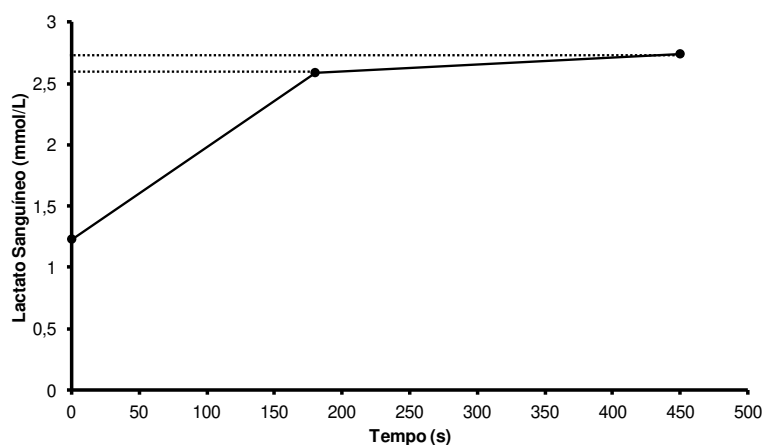
Por meio das variáveis de lactato sanguíneo ($DENE_{LAC}$), consumo de oxigênio ($DENE_{VO_2}$) e frequência cardíaca ($DENE_{FC}$), a intensidade dos duplos esforços não-exaustivos ($iDENE$) pôde ser determinada para os 19 voluntários. O sucesso na determinação da $iDENE$ por cada parâmetro fisiológico variou entre 68,4 e 100% (ver Tabela 2).

Tabela 2. Valores em média $\pm$ desvio padrão (DP) da $iDENE$ determinada em teste e reteste pelos parâmetros de lactato sanguíneo, consumo de oxigênio e frequência cardíaca.

	$iDENE_{LAC-1}$	$iDENE_{LAC-2}$	$iDENE_{VO_2-1}$	$iDENE_{VO_2-2}$	$iDENE_{FC-1}$	$iDENE_{FC-2}$
Média	10,54	10,18	10,71	10,88	9,79	9,83
DP	1,45	1,48	1,30	1,37	1,96	1,82
%suces.	84,2	100,0	68,4	89,5	73,7	84,2

O comportamento das variáveis fisiológicas mensuradas durante os duplos esforços apresentaram uma cinética similar à demonstrada por CHASSAIN (1986) (ver Figura 9). Além disso, os valores dos deltas obtidos nos duplos esforços para cada variável apresentaram altos coeficientes de determinação de regressão linear (ver Tabela 3), corroborando com a hipótese de que existe uma relação direta entre a intensidade de esforço e a diferença das respostas fisiológicas estudadas durante o DENE (Figura 6).

A



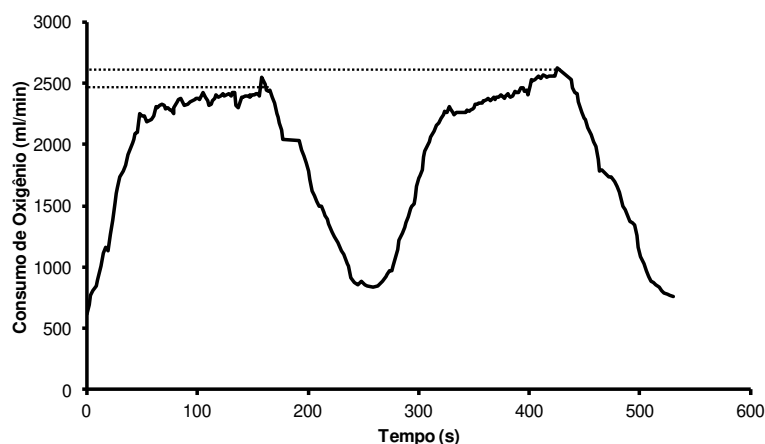
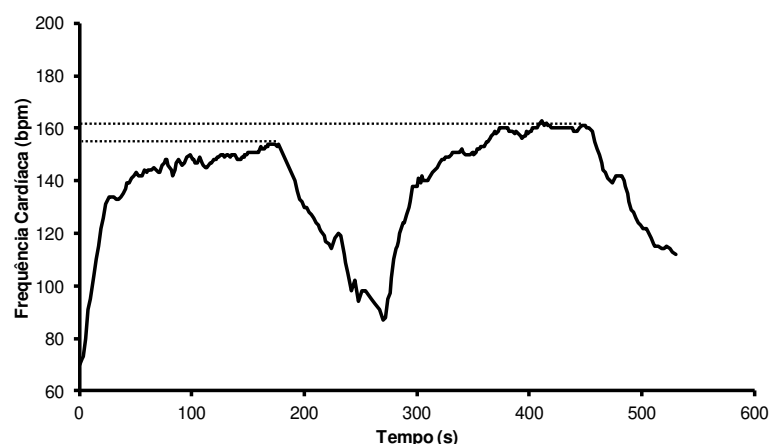
B**C**

Figura 9. Respostas fisiológicas de lactato sanguíneo (A), consumo de oxigênio (B) e frequência cardíaca (C) durante um teste de duplo esforço sob intensidade de 11 km/h de um dos indivíduos.

Tabela 3. Valores em média $\pm$ desvio padrão (DP) dos coeficientes de determinação das retas de regressão do protocolo de duplos esforços não-exaustivos (DENE) em teste (DENE-1) e reteste (DENE-2) determinados pelos parâmetros de lactato sanguíneo, consumo de oxigênio e frequência cardíaca.

	DENE_{LAC}-1	DENE_{LAC}-2	DENE_{VO2}-1	DENE_{VO2}-2	DENE_{FC}-1	DENE_{FC}-2
Média	0,89	0,92	0,85	0,92	0,89	0,90
DP	0,09	0,06	0,08	0,07	0,10	0,08

Como descrito na metodologia, o DENE foi composto por no mínimo quatro testes de duplos esforços, sendo que pra cada dia foram realizados dois testes separados por um intervalo mínimo de 60 min. Os valores de repouso das variáveis de

lactato sanguíneo, VO_2 e FC foram de: $1,1 \pm 0,3$ mmol/L, $474,3 \pm 101$ ml/min e $72,1 \pm 10,8$ respectivamente, enquanto que os valores dos mesmos parâmetros em repouso previamente ao segundo teste realizado no mesmo dia foram de: $1,2 \pm 0,4$ mmol/L, $432,9 \pm 79,1$ ml/min e $70,8 \pm 8,3$ respectivamente. Não foram encontradas diferenças significativas entre os valores das referidas variáveis fisiológicas antes do primeiro e do segundo duplo esforço realizado no mesmo dia ($p > 0,05$).

4.4. Comparação e correlação entre as velocidades obtidas em diferentes metodologias

Aqui serão abordadas as comparações das intensidades (em km/h) obtidas por meio dos diferentes protocolos utilizados para a determinação dos limiares anaeróbios (LV1, LV2, MFEL e DENE).

Comparação entre médias (ANOVA one-way)

Os valores de média $\pm$ desvio padrão das velocidades obtidas por meio dos referidos protocolos estão dispostos na Tabela 4. O ANOVA identificou diferenças significativas entre as variáveis ($p = 0,002$). A Tabela 5 apresenta os valores de p identificados pelo *post hoc* de Newmann-Keuls para a comparação individual entre as intensidades obtidas por cada teste. A Figura 10 apresenta graficamente as diferenças encontradas pelo *post hoc*.

Tabela 4. Média $\pm$ DP das intensidades (em km/h) do DENE_{LAC,VO2,FC}, LV1, LV2 e MFEL.

	DENE_{LAC} (n=16)	DENE_{VO2} (n=13)	DENE_{FC} (n=14)	LV1 (n=18)	LV2 (n=19)	iMFEL (n=19)
Média	10,54*#	10,71*#	9,79*#	10,22*#	12,59	12,13
DP	1,45	1,30	1,96	0,97	0,94	1,21

* $p < 0.05$ em relação ao LV2

$p < 0.05$ em relação a MFEL

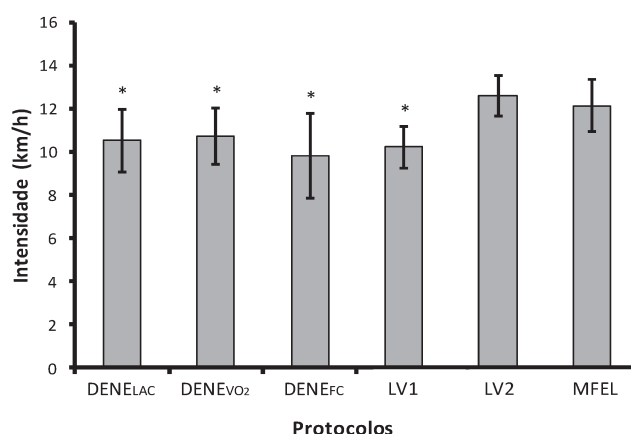


Figura 10. Representação gráfica dos valores de média $\pm$ DP das intensidades obtidas pelos diferentes protocolos (DENE_{LAC,VO2,FC}, LV1, LV2 e MFEL).

Correlação Intraclasse (ICC para consistência)

Para verificar possíveis correlações entre as intensidades preditas por meio dos diferentes protocolos, foi utilizado o coeficiente de correlação intraclasse (ICC 2,1 modelo fixo para consistência). Os coeficientes de correlação entre o $DENE_{LAC,VO2,FC}$ e o LV1 foram de 0,51, 0,82 e 0,53 ($p < 0,05$). Apenas o $DENE_{VO2}$ apresentou correlação significativa com o LV2 (0,75; $p < 0,05$). A iMFEL foi significativamente correlacionada com as velocidades preditas pelo $DENE_{LAC,VO2,FC}$ (0,80, 0,53 e 0,59 respectivamente). O ICC entre a iMFEL e os Limiares ventilatórios 1 e 2 foram de 0,68 e 0,50 ($p < 0,05$) respectivamente. Além disso, um ICC de 0,56 ($p < 0,01$) foi encontrado entre o LV1 e LV2.

Coeficiente de Correlação de Pearson

Com o intuito de se verificar possíveis correlações entre os valores de VO_{2max} e os parâmetros de LV1, LV2 (expressos em km/h e ml/kg/min) e MFEL, foi utilizado o teste de correlação produto-momento de Pearson. As Figuras 11, 12, 13 e 14 apresentam os resultados dos mesmos.

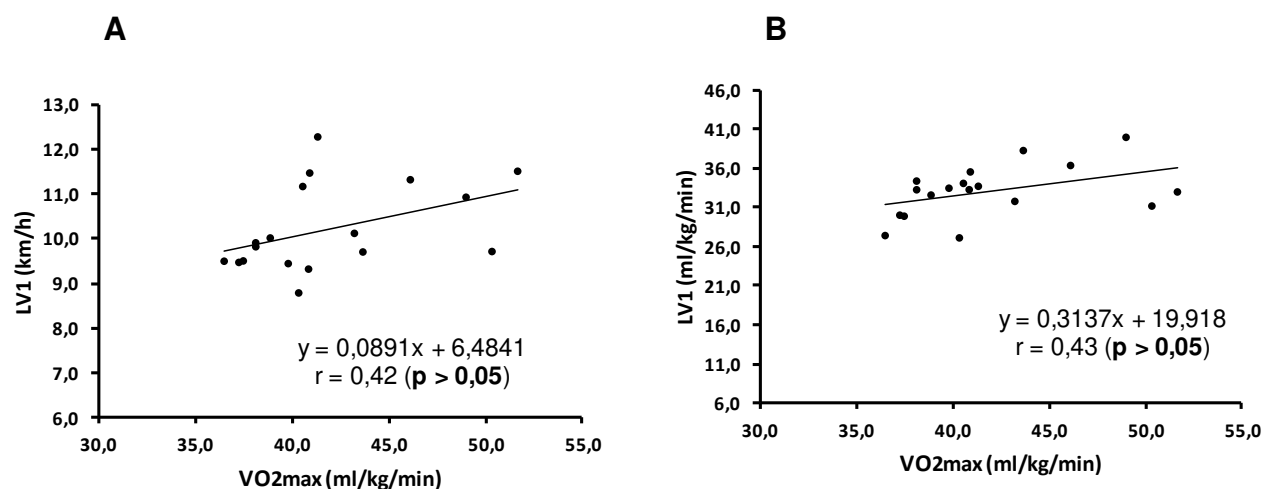


Figura 11. Testes de correlação produto-momento de Pearson entre VO_{2max} (expresso em ml/kg/min) e LV1 expresso em km/h (A) e em ml/kg/min (B).

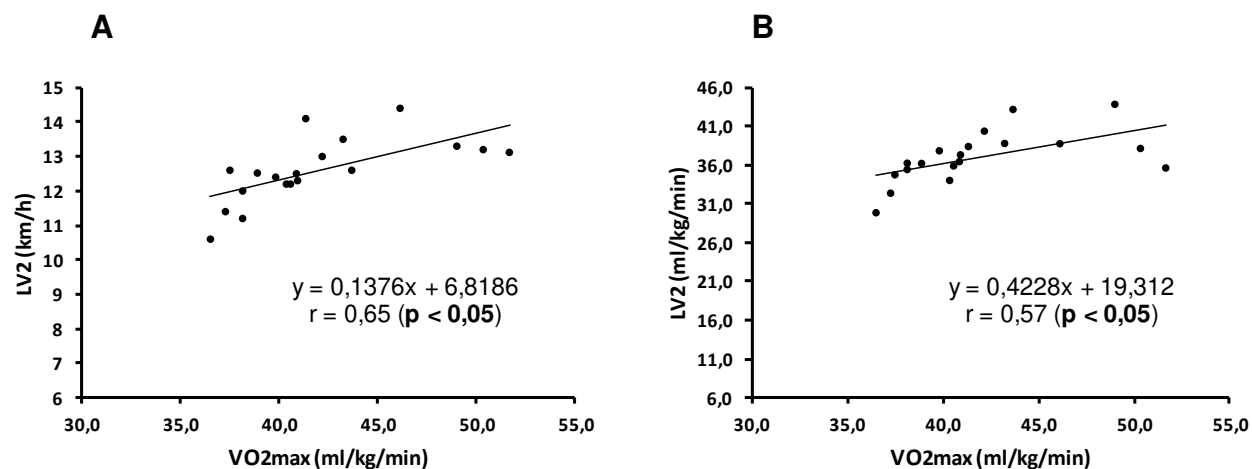


Figura 12. Testes de correlação produto-momento de Pearson entre VO_{2max} (expresso em ml/kg/min) e LV2 expresso em km/h (A) e em ml/kg/min (B).

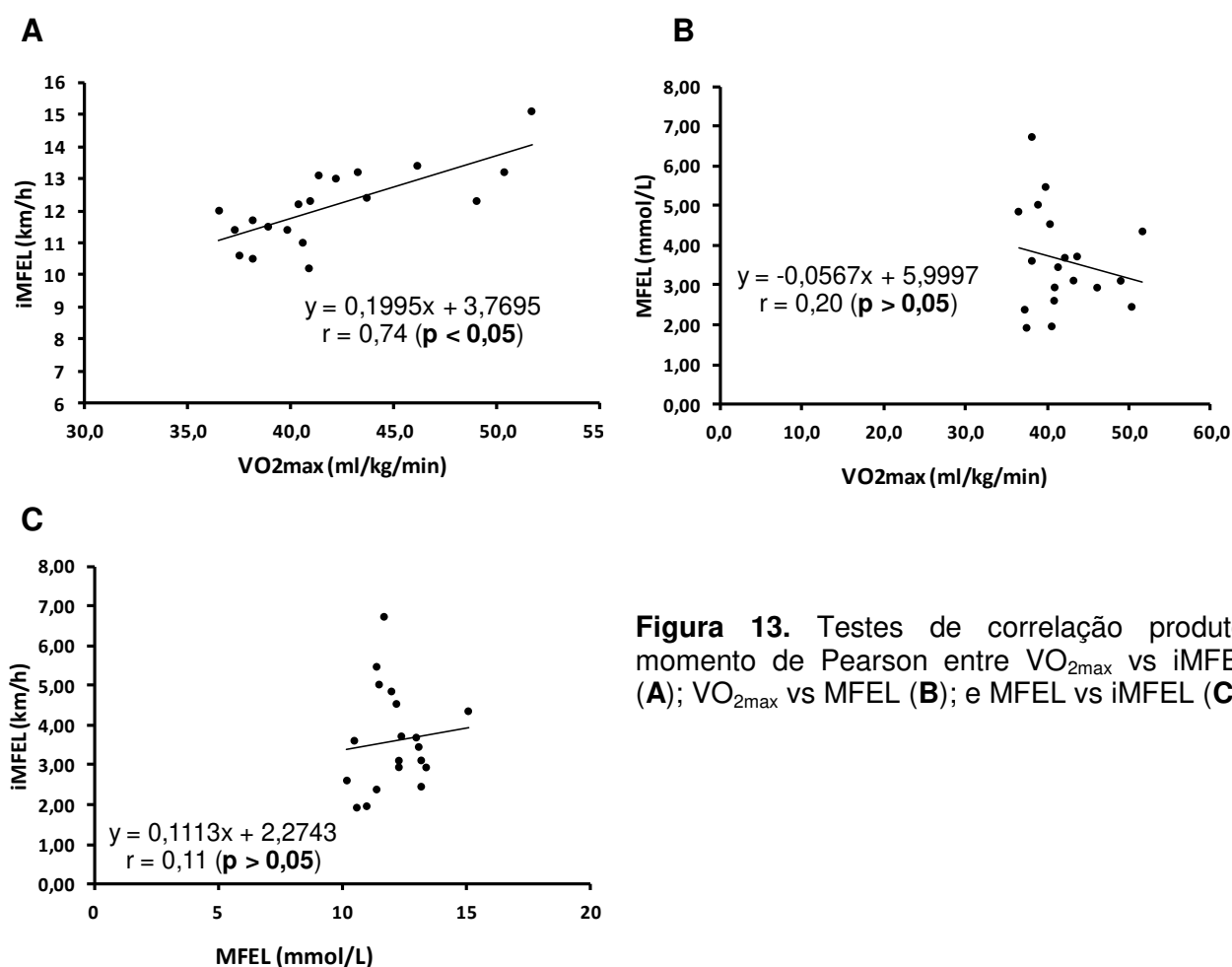


Figura 13. Testes de correlação produto-momento de Pearson entre VO_{2max} vs iMFEL (A); VO_{2max} vs MFEL (B); e MFEL vs iMFEL (C).

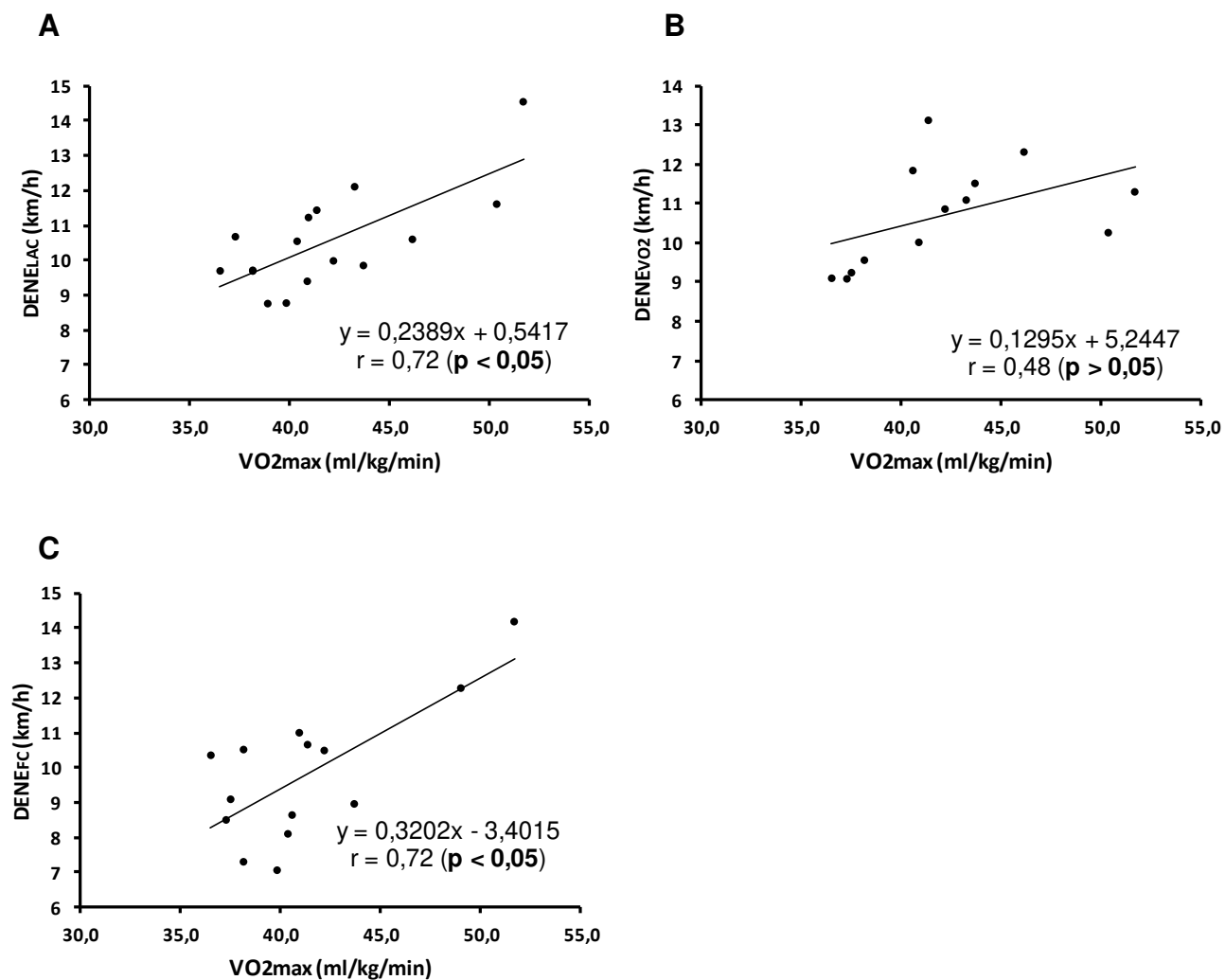


Figura 14. Testes de correlação produto-momento de Pearson entre VO₂max vs DENE determinado pelo lactato sanguíneo (A), VO₂ (B) e FC (C).

4.5. Reprodutibilidade do DENE

Para atestar a reprodutibilidade do protocolo de DENE em teste e reteste, foram utilizados o coeficiente de correlação intraclass (ICC 2,1 modelo fixo para concordância absoluta), o coeficiente de variação (CV) e a plotagem proposta por BLAND et al. (1986).

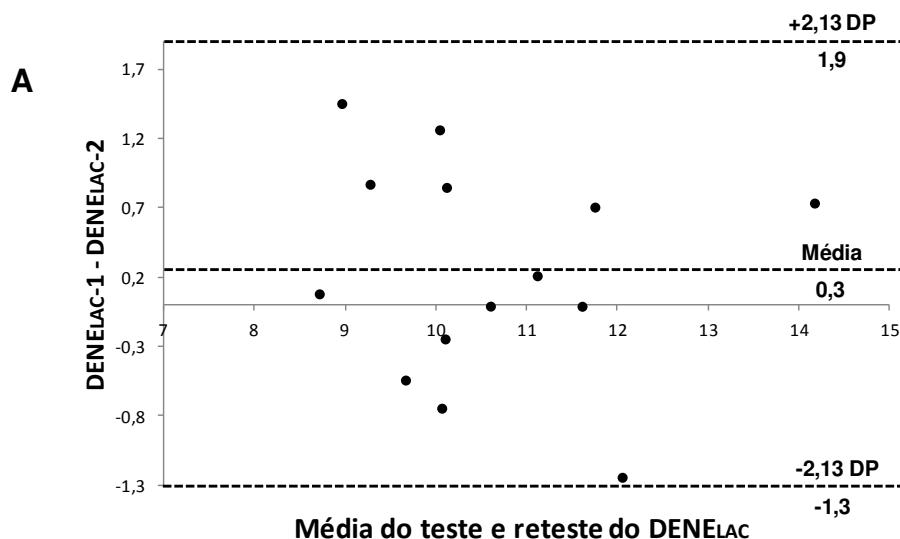
Os valores do ICC para concordância absoluta e do CV estão dispostos na Tabela 5.

Tabela 5. Valores do coeficiente de correlação intraclass (ICC) e do coeficiente de variação (CV) para o teste e reteste do DENE_{LAC,VO2,FC}.

	iDENE-1	iDENE-2	ICC	CV (%)
DENE_{LAC}	10,54 ± 1,45 (n=16)	10,18 ± 1,48 (n=19)	0,87*	5,1
DENE_{VO2}	10,71 ± 1,30 (n=13)	10,88 ± 1,37 (n=17)	0,49*	9,0
DENE_{FC}	9,79 ± 1,96 (n=14)	9,83 ± 1,82 (n=16)	0,66*	11,7

DENE_{FC}, DENE_{LAC} e DENE_{VO2} = intensidade (km/h) do teste de duplos esforços não-exaustivos determinado pela frequência cardíaca, lactato sanguíneo e consumo de oxigênio respectivamente; *p < 0.05.

A seguir, a Figura 15 apresenta a análise por meio dos plots de Bland & Altman para reprodutibilidade do DENE predito pela lactacidemia, VO2 e FC. Para o cálculo do limite de concordância foi utilizado o valor da tabela-*t* para o grau de liberdade: GL = N - 1.



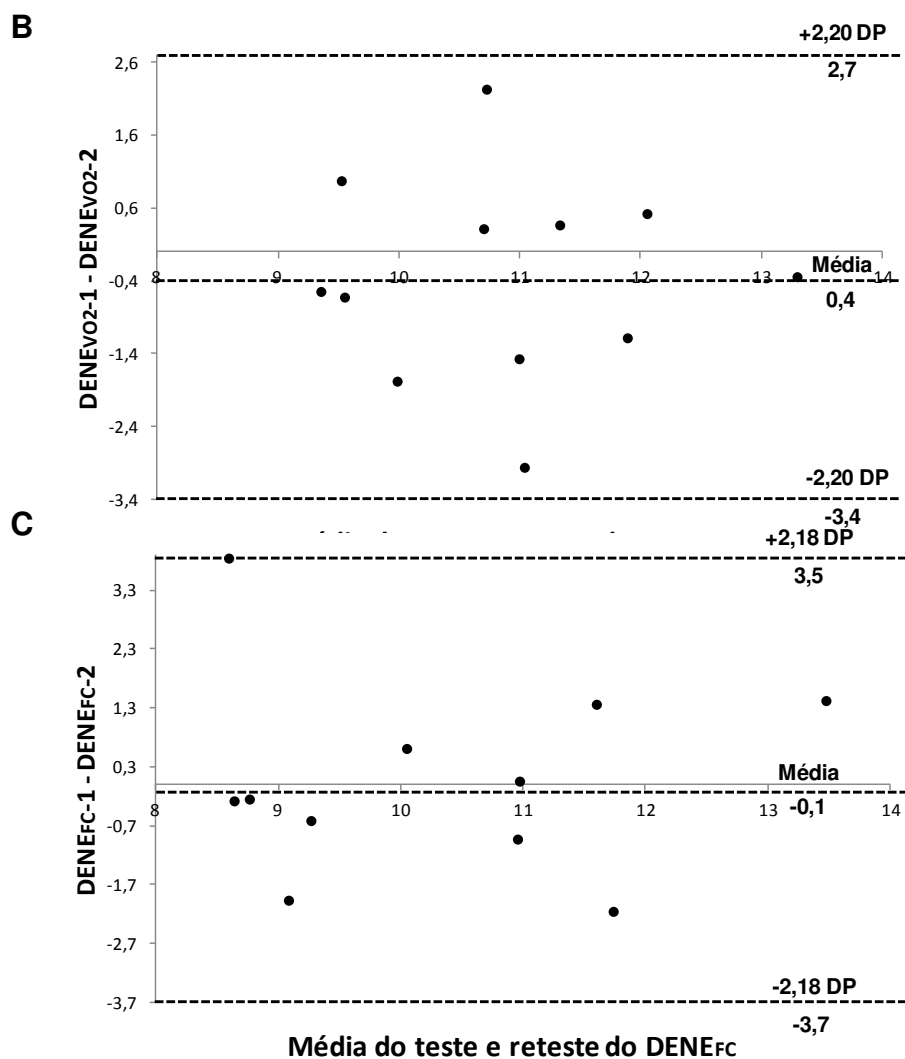


Figura 15. Plots de Bland & Altman para testar a reprodutibilidade do protocolo de duplos esforços não-exaustivos (DENE) determinado pelas variáveis de lactato sanguíneo (A), consumo de oxigênio (B) e frequência cardíaca (C).

5. DISCUSSÃO

5.1. Protocolo de rampa individualizado em esteira motorizada

O cicloergômetro e a esteira motorizada são os principais ergômetros utilizados para a avaliação do LAn. Ambos permitem o controle preciso da carga imposta ao indivíduo, sendo estes empregados em testes físicos com atletas e em pacientes cardiopatas (MEDELLI et al., 1993; PAGE et al., 1994). Embora ambos os ergômetros possibilitem a identificação das intensidades que definem a zona de transição metabólica, algumas diferenças com relação à descarga adrenérgica, lactacidemia e respostas ventilatórias são discutidas, de forma que esforços em esteira rolante induzem menor liberação de noradrenalina (LEHMANN et al., 1981), maiores valores de VO_{2max} e de VO_2 relativo ao LV1 e LV2 (MEDELLI et al., 1993; PAGE et al., 1994). Considerando o propósito da presente pesquisa de validar um protocolo de alta aplicabilidade (inclusive ao âmbito clínico) para a avaliação da performance e prescrição de treinamento aeróbio, optamos pela realização dos procedimentos em esteira rolante, uma vez que a literatura sugere este ergômetro para uma melhor avaliação dos parâmetros aeróbios e das respostas fisiológicas de interesse em comparação ao exercício em cicloergômetro.

Os limiares ventilatórios são comumente determinados em exercícios de cargas incrementais uma vez que um atraso na estabilização das variáveis fisiológicas respiratórias é observado em resposta aos aumentos abruptos na intensidade de esforço (BENTLEY et al., 2007; FOXDAL et al., 1994). Contudo, os parâmetros fisiológicos mensurados podem variar de acordo com a duração dos estágios, incremento na carga, com os métodos utilizados para analisar estes parâmetros e com a população avaliada (BEAVER et al., 1986; BENTLEY et al., 2007; BUCHFUHRER et al., 1983; HECK et al., 1985; HUGHES et al., 1982; MAZZEO e MARSHALL, 1989; MEDELLI et al., 1993; TANEHATA et al., 1999; WASSERMAN et al., 1973).

Pensando na aplicação clínica de testes para avaliação aeróbia, protocolos em rampa (compostos por constantes incrementos de baixa magnitude) foram sugeridos com o objetivo de reduzir a descarga adrenérgica imposta pela alteração da sobrecarga, o tempo total do teste de esforço máximo e de aumentar a precisão na estimativa dos parâmetros aeróbios (MYERS et al., 1992; MYERS et al., 1991; PORZASZ et al., 2003; WESTON e GABBETT, 2001).

Tendo em vista a grande possibilidade de futuras aplicações do protocolo estudado na presente pesquisa (DENE) no âmbito clínico, adotamos o uso de teste em rampa individualizado para a determinação do LV1, LV2 e VO_{2max} . Além disso, considerando a importância do controle do tempo de duração dos testes, individualizamos a taxa de incremento na velocidade de acordo com os padrões sugeridos pelo AMERICAN COLLEGE OF SPORTS MEDICINE (1991).

BUCHFUEHRER et al. (1983) observaram que os parâmetros aeróbios durante testes crescentes são obtidos com maior precisão quando a duração total do teste é de aproximadamente 10min. Na presente pesquisa todos os voluntários realizaram o protocolo em rampa dentro do tempo estimado (entre 8 e 12 min), demonstrando a eficácia da individualização do protocolo utilizado neste trabalho.

5.2. Parâmetros aeróbios (LV1, LV2 e MFEL)

KINDERMANN et al. (1979) conceituaram o primeiro limiar como “limiar aeróbio”, referente aos aumentos iniciais da concentração de lactato (aproximadamente 2mmol/L) enquanto que o segundo limiar ou “limiar anaeróbio” ocorria em concentrações séricas de lactato próximas a 4 mmol/L. De acordo com os nossos resultados, a concentração sérica de lactato referente à MFEL foi encontrada em valores similares aos reportados pela literatura ($3,62 \pm 1,27$ mmol/L). Na década de 80, HECK et al. (1985) determinaram o limiar anaeróbio por diferentes protocolos, inclusive utilizando o padrão ouro da máxima fase estável de lactato (MFEL) e observaram que em média, o LAn ocorreu em concentrações de 4 mmol/L. Corroborando com estes trabalhos, diversos estudos encontraram valores similares de concentração de lactato na MFEL (BENEKE, 2003a;2003b; BILLAT et al., 2003; DEKERLE et al., 2003; DITTRICH et al., 2013; PRINGLE e JONES, 2002).

Considerando o conceito das zonas de transição metabólica proposto por KINDERMANN et al. (1979), torna-se plausível assumir que a intensidade da MFEL (iMFEL) se encontra próxima à do segundo limiar ventilatório. No entanto, estudos mais antigos sugerem uma relação entre o LV1 com a MFEL (AUNOLA e RUSKO, 1992; YAMAMOTO et al., 1991). Apesar de correlacionados, o LV1 representou uma intensidade inferior à iMFEL no presente estudo. Por outro lado, além de correlacionadas ($ICC = 0,68$; $p < 0,05$), as intensidades da MFEL e do LV2 não apresentaram diferenças estatísticas entre si ($12,13 \pm 1,21$ km/h e $12,59 \pm 0,94$ km/h, respectivamente). Contrariando estes achados, SCHEEN et al. (1981) e SIMON et al. (1983) observaram que o LV2 se encontrava em intensidades acima da MFEL e em concentrações de lactato superiores ao clássico 4 mmol/L. Mais recentemente, DEKERLE et al. (2003) e LAPLAUD et al. (2006) determinaram a intensidade de MFEL (iMFEL) em valores inferiores aos do LV2 e superiores ao LV1, concordando com os estudos supracitados.

Nossos resultados indicam que a MFEL e o LV2 podem representar fenômenos metabólicos similares. As diferenças entre os resultados encontrados na presente pesquisa com os descritos na literatura podem ser explicadas pelas diferenças nos aspectos metodológicos quanto ao ergômetro utilizado, modelo de incremento das

cargas, e equipamentos de análises dos parâmetros de trocas gasosas e de lactacidemia. Outro aspecto metodológico adotado na presente pesquisa que pode ter influenciado os resultados, foram as interrupções durante a MFEL a cada 5 minutos para coleta de sangue. BENEKE et al. (2003) mostraram que as interrupções para coletas não interferem na concentração sérica de lactato relativa à MFEL. Contudo, os intervalos possivelmente permitem a reoxidação e tamponamento dos produtos metabólicos levando à estabilização da lactacidemia entre o 10º e o 30º minuto em intensidades superiores. Desta forma, acreditamos que apesar das concentrações de lactato na MFEL condizerem com as reportadas pela literatura, a iMFEL determinada na presente pesquisa pode ter sido superestimada e consequentemente aproximada ao LV2.

5.3. Correlações entre VO_{2max} e Limiares (LV1, LV2, MFEL)

Um dos parâmetros ainda muito utilizado nas ciências do esporte para avaliar a performance aeróbia, é o consumo máximo de oxigênio (VO_{2max}), o qual se refere à potência máxima de captação, transporte e consumo do oxigênio pelo organismo (BASSETT e HOWLEY, 2000). Em um interessante trabalho, BILLAT et al. (2001) observaram diferenças significativas entre o VO_{2max} de maratonistas *top-class* em comparação com maratonistas de alto nível (*high level*). Mais ainda, correlações negativas entre o VO_{2max} e o tempo de corrida durante uma prova de maratona e uma de 1000m sugerem este parâmetro como bom preditor de performance aeróbia para corredores de média e longa distância.

Apesar de não avaliarmos um índice direto de performance em provas de longa distância, o VO_{2max} foi obtido por meio da análise de gases durante o protocolo em rampa individualizado. De acordo com os nossos resultados, nenhuma correlação foi encontrada entre o VO_{2max} e o LV1 (Figura 11). Em contrapartida, foram observadas correlações entre o VO_{2max} e o LV2 expresso em km/h e ml/kg/min: $r = 0,65$ e $0,57$, respectivamente ($p < 0,05$) (Figura 12). O mesmo ocorreu para o VO_{2max} vs iMFEL ($r = 0,74$; $p < 0,05$) mas não para o VO_{2max} vs a concentração sanguínea de lactato na MFEL ($r = 0,20$; $p > 0,05$) (Figura 13). Estes resultados sugerem que o segundo limiar anaeróbio, também tido como um índice de capacidade aeróbia (GOBATTO et al., 2001), possui relação direta com a potência aeróbia máxima.

A expressão dos limiares anaeróbios em percentuais relativos ao VO_{2max} também possui relação com a performance aeróbia (MEYER; LUCIA; et al., 2005). Alguns autores relatam que quanto maior o nível de treinamento do atleta, maior o consumo de oxigênio nos limiares 1 e 2 relativos ao VO_{2max} (CHICHARRO et al., 1997; MEYER; LUCIA; et al., 2005). Na presente pesquisa, os limiares 1 e 2 foram determinados em distintas intensidades absolutas e relativas ao VO_2 em indivíduos moderadamente ativos (ver Tabela 1). Os valores do LV1 e LV2 em percentual relativo ao VO_{2max} foram de $79,37 \pm 8,14\%$ e $88,77 \pm 7,31\%$, respectivamente. Alguns estudos utilizando cicloergômetro encontraram valores menores para o LV1 e LV2 (em $\%VO_{2max}$) (DEKERLE et al., 2003; SIMON et al., 1983). Como anteriormente abordado, a menor demanda energética e o menor consumo de oxigênio durante exercícios de bicicleta

comparados a esteira podem explicar estas diferenças (MEDELLI et al., 1993). Em atletas, estudos demonstram a ocorrência do LV1 e LV2 aproximadamente entre 70 – 75% do VO_{2max} e 85 – 90% do VO_{2max} respectivamente (LUCIA et al., 2001). Para indivíduos sedentários ou moderadamente ativos, estes valores podem variar de acordo com a população estudada (MEYER; LUCIA; et al., 2005).

5.4. Teste de duplos esforços não-exaustivos (DENE)

Na década de 80, CHASSAIN (1986) propôs um método para determinar uma intensidade de esforço na qual as variáveis fisiológicas de FC e lactacidemia permaneceriam em equilíbrio dinâmico. Ele conceituou esta intensidade como “potência crítica” uma vez que similarmente ao modelo proposto por MONOD e SCHERRER (1965), a intensidade de seus duplos esforços não-exaustivos (iDENE) era determinada por um modelo matemático que considera as respostas fisiológicas frente a diferentes potências (Watts). Entretanto, tecnicamente o protocolo de DENE tem suas características similares aos protocolos clássicos de determinação da zona de transição metabólica, uma vez que tais são comumente fundamentados em dois preceitos: 1) na análise da intensidade que antecede a abrupta elevação de variáveis fisiológicas (BENTLEY et al., 2007; JONES et al., 1998; OROK et al., 1989; TEGTBUR et al., 1993; YOSHIDA, 1984) e 2) na maior intensidade em que se observa estabilização destas variáveis (BENEKE et al., 2003; BILLAT et al., 1994; SAIKI et al., 1967; URHAUSEN et al., 1993). Neste sentido, é possível acreditar que o protocolo proposto por Chassain em 1986 é capaz de estimar uma das duas intensidades que definem a zona de transição metabólica também conhecidas como limiares anaeróbios 1 e 2. Consequentemente, tivemos como um dos objetivos, verificar qual a relação do teste de DENE com os protocolos *gold standard* para a determinação do primeiro limiar anaeróbio (limiar ventilatório 1) e do segundo limiar anaeróbio (máxima fase estável de lactato).

5.4.1. Comparação com outros métodos

O protocolo de duplos esforços não-exaustivos se baseia no princípio de que: se o repouso entre dois esforços idênticos é suficiente para eliminar os resíduos biológicos deixados pelo primeiro, as respostas fisiológicas do segundo esforço será equivalente as do primeiro (CHASSAIN, 1986). SID-ALI et al. (1991) aplicaram um protocolo baseado no proposto por Chassain. Neste trabalho eles utilizaram um primeiro esforço com duração de 7min e após intervalo de 1,5min, um segundo esforço com duração de 14min sob mesma intensidade. Foram encontradas significativas correlações entre este procedimento e a intensidade de velocidade crítica (SID-ALI et al., 1991). No entanto, vale salientar que neste estudo apenas o coeficiente de correlação foi utilizado para tentar atestar a validade do protocolo, não sendo realizado nenhum teste estatístico capaz de indicar diferenças entre as variáveis.

Em um estudo com ratos, pesquisadores do nosso laboratório compararam o DENE com a MFEL e não encontraram diferenças significativas entre as intensidades preditas pelos dois testes em exercício de natação (MANCHADO et al., 2006). Estes achados nos levaram à hipótese de que o DENE poderia estimar a MFEL em humanos. Todavia, apesar da significativa correlação ($p < 0,05$), o DENE determinado pela lactacidemia ($DENE_{LAC}$), consumo de oxigênio ($DENE_{VO_2}$) e frequência cardíaca ($DENE_{FC}$) foram estatisticamente inferiores à intensidade da MFEL (ver Tabela 4) subestimando-a em aproximadamente 14,3, 12,0 e 24,4% para o $DENE_{LAC}$, $DENE_{VO_2}$ e $DENE_{FC}$ respectivamente. Como discutido anteriormente, acreditamos que o método utilizado para a determinação da iMFEL, apesar de condizer com as abordagens clássicas, pode ter supraestimado sua intensidade devido às pausas para coletas. No entanto, as significativas correlações entre os protocolos sugerem que esta subestimação ocorre de maneira sistemática e em proporções similares. Desta forma, a iMFEL pode ser estimada a partir do DENE quando acrescidos 17,4, 14,9 e 26,4% de sua intensidade predita pelo lactato, VO_2 ou FC respectivamente.

Como mencionado anteriormente, CHASSAIN (1986) conceituou a intensidade de exercício predita por seu protocolo como “potência crítica”, assim como nos modelos propostos por MONOD et al. (1965), que por meio de ajustes matemáticos determinaram uma intensidade que teoricamente pode ser mantida por tempo

indeterminado. Outros trabalhos compararam modelos de potência crítica com a intensidade de máxima fase estável de lactato, a qual é considerada padrão ouro na determinação da capacidade aeróbia (DEKERLE et al., 2003; DEKERLE et al., 2005; JENKINS e QUIGLEY, 1990; PRINGLE et al., 2002; SMITH e JONES, 2001). Posteriormente, SMITH et al. (2001) reportaram que apesar de não observadas diferenças estatísticas entre a velocidade crítica com a iMFEL, o *bias* do limite de concordância proposto por BLAND et al. (1986) foi muito alto para afirmar igualdade entre essas variáveis. Mais tarde, outros autores compararam os protocolos baseados em modelos de potência crítica com a MFEL e apesar dos altos índices de correlação, a potência crítica superestimou a iMFEL em -16% e 9% em cicloergômetro (DEKERLE et al., 2003; PRINGLE et al., 2002), e em 6% em natação (DEKERLE et al., 2005). Outros estudos comparando ambos os protocolos também encontraram resultados apontando a potência crítica como uma intensidade próxima, mas superior à MFEL (JENKINS et al., 1990; JENKINS e QUIGLEY, 1992). Interessantemente, na presente pesquisa encontramos os valores de “potência crítica” preditos pelo $DENE_{LAC,VO2,FC}$ em $85,7 \pm 6,8\%$, $88,0 \pm 10,1\%$ e $75,6 \pm 24,2\%$ da iMFEL, indicando que o teste de DENE subestima a iMFEL entre 12 e 24% (dependendo da variável fisiológica utilizada para sua determinação). Todavia, as intensidades preditas pelo $DENE_{LAC,VO2,FC}$ estiveram estatisticamente correlacionadas com a iMFEL. Além disso, as mesmas também se correlacionaram com o VO_{2max} (Figura 14). Estes resultados indicam uma associação entre as iDENE com índices de capacidade e potência aeróbia, apontando tais resultados como bons preditores de performance aeróbia.

Até o presente momento, nenhum trabalho se dedicou a investigar relações entre o protocolo de duplos esforços não-exaustivos com os limiares ventilatórios 1 e 2. Similarmente à comparação com a MFEL, as $iDENE_{LAC,VO2,FC}$ foram estatisticamente inferiores ao LV2, no entanto, nenhuma diferença estatística foi encontrada entre as $iDENE_{LAC,VO2,FC}$ e o LV1 (Tabela 4). Não obstante, os coeficientes de correlação intraclasse para consistência apontaram significativas correlações entre estas variáveis. Estes resultados sugerem que o protocolo de DENE, realizado sob os mesmos procedimentos metodológicos propostos em 1986 (CHASSAIN, 1986), estimam a intensidade relativa à primeira intensidade da zona de transição metabólica.

Interessantemente, apesar de menos utilizado nas ciências do esporte, o primeiro limiar ventilatório tem relação direta com a performance aeróbia (MEYER; LUCIA; et al., 2005). Alguns trabalhos demonstraram altas correlações entre o LV1 com o VO_{2max} (CHICHARRO et al., 1997; LUCIA et al., 2001) e com o desempenho atlético (PEDRO et al., 2013). Contrariamente à literatura, na presente pesquisa não foram encontradas significantes correlações entre o LV1 e o VO_{2max} , no entanto, o LV1 se correlacionou diretamente com a intensidade de MFEL (ICC: 0,68; $p < 0,05$).

Apesar de comumente utilizado para avaliar a capacidade funcional de pacientes (WASSERMAN, 2002; WASSERMAN et al., 1975), alguns estudos têm demonstrado a importância do LV1 como indicador de risco de mortalidade no pós-operatório (GITT et al., 2002; OLDER et al., 1999; OLDER et al., 1993; SMITH et al., 2009). Além de uma ferramenta avaliativa, o LV1 parece ser um ótimo parâmetro para a prescrição de treinamento em portadores de diferentes doenças endócrino metabólicas (AOIKE et al., 2012; CASABURI et al., 1991; KOUFAKI et al., 2002; PUENTE-MAESTU et al., 2000; SAKKAS et al., 2003; SULLIVAN et al., 1989). Mais ainda, MEYER, et al. (2005) demonstraram que o LV1 representa uma intensidade de treinamento capaz de gerar adaptações fisiológicas positivas aos pacientes sem trazer riscos indesejáveis decorrentes do exercício físico.

Uma vez que nossos resultados apontam para o DENE como um possível estimador do LV1, acreditamos que a determinação deste importante parâmetro possa ser realizada a partir do protocolo proposto na presente pesquisa, o qual apresenta algumas vantagens metodológicas em relação aos procedimentos clássicos, como: 1) menor tempo de duração e não exaustivo (a característica mais importante do protocolo); 2) esforços de baixa a moderada intensidade 3) determinação a partir de três variáveis fisiológicas distintas, sendo duas delas não invasivas.

5.4.2. Reprodutibilidade do DENE

A validade de um protocolo depende não apenas da sua comparação com outros testes já estabelecidos na literatura, mas também da confiabilidade apresentada por este. Neste sentido, os procedimentos de teste e reteste são abordados na literatura como forma de mensurar o erro inerente à ferramenta (HOPKINS, 2000). Na década de 90, WELTMAN et al. (1990) utilizou o coeficiente de correlação de Pearson e comparação entre médias por teste-*t* para aferir a reprodutibilidade do limiar de lactato. Estes mesmos métodos foram abordados em um trabalho que verificou a reprodutibilidade do limiar anaeróbico individual (MCLELLAN et al., 1993). De acordo com os nossos resultados, não foram encontradas diferenças significativas entre os valores de intensidade preditas em teste e reteste pelo DENE utilizando qualquer uma das três variáveis fisiológicas ora abordadas (lactato, VO_2 e FC). Além disso, foram observadas significativas correlações entre as mesmas.

Em uma interessante revisão, HOPKINS (2000) discute os métodos estatísticos ideais para se verificar reprodutibilidade em ciências do esporte. Em seu trabalho ele comenta sobre a utilização de três testes já bem descritos na literatura: 1) o coeficiente de correlação intraclassa (ICC); 2) o erro típico da amostra para o cálculo do coeficiente de variação (CV) e 3) o limite de concordância proposto pelo método de Bland & Altman (BLAND et al., 1986). Por consequência, encontramos na literatura vários estudos que utilizaram estes métodos para atestar a reprodutibilidade de parâmetros de performance (HAUSER et al., 2012; HOPKINS et al., 2001; WESTON et al., 2001; ZAGATTO et al., 2009).

De acordo com os nossos resultados, o ICC para concordância absoluta apresentou bons coeficientes de correlação ($p < 0,05$) para o teste e reteste do DENE predito a partir das três variáveis fisiológicas utilizadas (lactato, VO_2 e FC). No entanto, o $DENE_{LAC}$ apresentou maior ICC frente aos demais, determinados por FC e VO_2 (ver Tabela 6). O coeficiente de variação (CV) também apresentou melhores resultados para o $DENE_{LAC}$ (5,1%) em relação ao $DENE_{VO_2}$ (9,0%) e $DENE_{FC}$ (11,7%). Outros estudos utilizando o CV como parâmetro de reprodutibilidade para diferentes protocolos para a determinação do LAn encontraram valores semelhantes aos da presente pesquisa, principalmente aos do $DENE_{LAC}$ (HAUSER et al., 2012; HOPKINS et al., 2001). Além

disso, de acordo com o critério de sucesso adotado na presente pesquisa para a determinação do DENE, o $DENE_{LAC}$ apresentou os menores valores de insucesso (quatro insucessos no $DENE_{LAC-1}$ e nenhum no $DENE_{LAC-2}$ - ver valores de “n” na Tabela 6).

Apesar de inferiores, o $DENE_{VO_2}$ e $DENE_{FC}$ também apresentaram significativos coeficientes de correlação intraclasse. Mais ainda, como pudemos observar na Figura 11, todos os valores das diferenças entre a $iDENE-1$ e $iDENE-2$, preditos pelo lactato, VO_2 e FC estiveram dentro do limite de concordância dos *plots* de Bland & Altman, indicando que o erro inerente ao procedimento se encontra em níveis aceitáveis (BLAND et al., 1986; ZAGATTO et al., 2009). Estes resultados indicam que a intensidade do DENE pode ser obtida com base em medidas de qualquer uma das três variáveis fisiológicas estudadas nesta pesquisa.

6. CONCLUSÃO

De acordo com nossos resultados, nós concluimos que as intensidades de exercício obtidas no teste proposto (DENE), determinadas por qualquer uma das três variáveis fisiológicas (lactato, VO_2 e FC) apresentam os mesmos resultados entre elas e com bons índices de confiabilidade, que pôde ser constatado a partir de procedimento teste-reteste. Além disso, apesar de não apresentarem a mesma dimensão da intensidade de MLSS, os resultados de $DENE_{LAC,VO_2,FC}$ apresentaram significativos índices de correlação com o padrão ouro para a capacidade aeróbia.

Um dos principais resultados encontrados, foi a ausência de diferença estatística entre os $DENEs_{LAC,VO_2,FC}$ e o VT1. Além disso, estes parâmetros se mostraram correlacionados. Tais resultados sugerem que o protocolo proposto por CHASSAIN (1986) possibilita a estimação por meio de um método não-exaustivo e de curta duração a primeira intensidade da zona de transição metabólica, também conhecida como primeiro limiar anaeróbio.

7. IMPLICAÇÕES PRÁTICAS

O protocolo de DENE foi proposto na década de 80 e desde então poucos trabalhos se dedicaram a investigar sua validade para estimar as intensidades que delimitam a zona de transição metabólica. Apesar de observarmos diversos métodos já existentes na literatura capazes de identificar os limiares anaeróbios, estes são compostos por esforços de alta intensidade – muitas vezes requerendo a exaustão do avaliado – ou de longa duração. Além disso, a grande maioria se utiliza de análises de variáveis bioquímicas e respiratórias de alto custo financeiro. Estas características, unidas, dificultam a aplicação prática destes procedimentos nas diferentes populações, como no âmbito desportivo (devido ao custo dos materiais e o tempo requerido para a avaliação) ou clínico (em que a indução à esforços exaustivos podem representar um perigo para os pacientes).

Neste contexto, o protocolo de DENE pode ser uma interessante abordagem para ambas as populações (atletas ou pacientes), uma vez que de acordo com a presente pesquisa, este procedimento consegue estimar o primeiro limiar ventilatório, que representa uma importante ferramenta na avaliação e prescrição de treinamento aeróbio. Mais ainda, a iDENE pode ser obtida por meio da análise de da frequência cardíaca, o que o torna um procedimento não-exaustivo, não-invasivo, de baixo custo financeiro e de curta duração. Essas características tornam o DENE um dos protocolos mais aplicáveis (ou até mesmo o mais aplicável) nos diversos âmbitos do treinamento.

Na presente pesquisa, as cargas do DENE foram escolhidas a partir dos resultados de VO_{2max} e LV2 do protocolo em rampa (descritos nos métodos). Contudo, estes procedimentos foram adotados unicamente como forma de padronizar a escolha das cargas para todos os voluntários. No trabalho original de 1986, Chassain sugere que as intensidades sejam escolhidas próximas ao limiar anaeróbio, baseado pela experiência do avaliador (CHASSAIN, 1986). Desta forma, outras maneiras de padronização da escolha das cargas também podem igualmente ser utilizadas para este fim, como por exemplo: o uso de percentuais relativos à frequência cardíaca máxima predita (KATCH et al., 1978; MEYER et al., 1999).

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AINSWORTH, B. E.; HASKELL, W. L.; WHITT, M. C.; IRWIN, M. L.; SWARTZ, A. M.; STRATH, S. J.; O'BRIEN, W. L.; BASSETT, D. R., JR.; SCHMITZ, K. H.; EMPLAINCOURT, P. O.; JACOBS, D. R., JR.; LEON, A. S. Compendium of physical activities: an update of activity codes and MET intensities. **Med Sci Sports Exerc**, v. 32, n. 9 Suppl, p. S498-504, Sep 2000.

AOIKE, D. T.; BARIA, F.; ROCHA, M. L.; KAMIMURA, M. A.; MELLO, M. T.; TUFIK, S.; AMMIRATI, A.; CUPPARI, L. Impact of training at ventilatory threshold on cardiopulmonary and functional capacity in overweight patients with chronic kidney disease. **J Bras Nefrol**, v. 34, n. 2, p. 139-47, Jun 2012.

AUNOLA, S.; RUSKO, H. Does anaerobic threshold correlate with maximal lactate steady-state? **J Sports Sci**, v. 10, n. 4, p. 309-23, Aug 1992.

BARON, B.; DEKERLE, J.; ROBIN, S.; NEVIERE, R.; DUPONT, L.; MATRAN, R.; VANVELCENAHHER, J.; ROBIN, H.; PELAYO, P. Maximal lactate steady state does not correspond to a complete physiological steady state. **Int J Sports Med**, v. 24, n. 8, p. 582-7, Nov 2003.

BASSETT, D. R., JR.; HOWLEY, E. T. Limiting factors for maximum oxygen uptake and determinants of endurance performance. **Med Sci Sports Exerc**, v. 32, n. 1, p. 70-84, Jan 2000.

BEAVER, W. L.; WASSERMAN, K.; WHIPP, B. J. Bicarbonate buffering of lactic acid generated during exercise. **J Appl Physiol**, v. 60, n. 2, p. 472-8, Feb 1986.

BENEKE, R. Maximal lactate steady state concentration (MLSS): experimental and modelling approaches. **Eur J Appl Physiol**, v. 88, n. 4-5, p. 361-9, Jan 2003a.

BENEKE, R. Methodological aspects of maximal lactate steady state-implications for performance testing. **Eur J Appl Physiol**, v. 89, n. 1, p. 95-9, Mar 2003b.

BENEKE, R.; HUTLER, M.; LEITHAUSER, R. M. Maximal lactate-steady-state independent of performance. **Med Sci Sports Exerc**, v. 32, n. 6, p. 1135-9, Jun 2000.

BENEKE, R.; HUTLER, M.; VON DUVILLARD, S. P.; SELLENS, M.; LEITHAUSER, R. M. Effect of test interruptions on blood lactate during constant workload testing. **Med Sci Sports Exerc**, v. 35, n. 9, p. 1626-30, Sep 2003.

BENTLEY, D. J.; NEWELL, J.; BISHOP, D. Incremental exercise test design and analysis: implications for performance diagnostics in endurance athletes. **Sports Med**, v. 37, n. 7, p. 575-86, 2007.

BILLAT, V.; DALMAY, F.; ANTONINI, M. T.; CHASSAIN, A. P. A method for determining the maximal steady state of blood lactate concentration from two levels of submaximal exercise. **Eur J Appl Physiol Occup Physiol**, v. 69, n. 3, p. 196-202, 1994.

BILLAT, V. L.; DEMARLE, A.; SLAWINSKI, J.; PAIVA, M.; KORALSZTEIN, J. P. Physical and training characteristics of top-class marathon runners. **Med Sci Sports Exerc**, v. 33, n. 12, p. 2089-97, Dec 2001.

BILLAT, V. L.; SIRVENT, P.; PY, G.; KORALSZTEIN, J. P.; MERCIER, J. The concept of maximal lactate steady state: a bridge between biochemistry, physiology and sport science. **Sports Med**, v. 33, n. 6, p. 407-26, 2003.

BLAND, J. M.; ALTMAN, D. G. Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. **Lancet**, v. 1, n. 8476, p. 307-10, Feb 8 1986.

BUCHFUEHRER, M. J.; HANSEN, J. E.; ROBINSON, T. E.; SUE, D. Y.; WASSERMAN, K.; WHIPP, B. J. Optimizing the exercise protocol for cardiopulmonary assessment. **J Appl Physiol**, v. 55, n. 5, p. 1558-64, Nov 1983.

CASABURI, R.; PATESSIO, A.; IOLI, F.; ZANABONI, S.; DONNER, C. F.; WASSERMAN, K. Reductions in exercise lactic acidosis and ventilation as a result of exercise training in patients with obstructive lung disease. **Am Rev Respir Dis**, v. 143, n. 1, p. 9-18, Jan 1991.

CHASSAIN, A. P. Méthode d'appréciation objective de la tolérance de l'organisme à l'effort: application à la mesure des puissances critiques de la fréquence cardiaque et de la lactatémie. **Science & Sports**, v. 1, p. 41-48, 1986.

CHICHARRO, J. L.; PEREZ, M.; VAQUERO, A. F.; LUCIA, A.; LEGIDO, J. C. Lactic threshold vs ventilatory threshold during a ramp test on a cycle ergometer. **J Sports Med Phys Fitness**, v. 37, n. 2, p. 117-21, Jun 1997.

DEKERLE, J.; BARON, B.; DUPONT, L.; VANVELCENAHHER, J.; PELAYO, P. Maximal lactate steady state, respiratory compensation threshold and critical power. **Eur J Appl Physiol**, v. 89, n. 3-4, p. 281-8, May 2003.

DEKERLE, J.; PELAYO, P.; CLIPET, B.; DEPRETZ, S.; LEFEVRE, T.; SIDNEY, M. Critical swimming speed does not represent the speed at maximal lactate steady state. **Int J Sports Med**, v. 26, n. 7, p. 524-30, Sep 2005.

DENIS, C.; FOUQUET, R.; POTY, P.; GEYSSANT, A.; LACOUR, J. R. Effect of 40 weeks of endurance training on the anaerobic threshold. **Int J Sports Med**, v. 3, n. 4, p. 208-14, Nov 1982.

DITTRICH, N.; DE LUCAS, R. D.; MAIORAL, M. F.; DIEFENTHAELER, F.; GUGLIELMO, L. G. Continuous and intermittent running to exhaustion at maximal lactate steady state: Neuromuscular, biochemical and endocrinal responses. **J Sci Med Sport**, Feb 4 2013.

FAUDE, O.; KINDERMANN, W.; MEYER, T. Lactate threshold concepts: how valid are they? **Sports Med**, v. 39, n. 6, p. 469-90, 2009.

FOXDAL, P.; SJODIN, B.; SJODIN, A.; OSTMAN, B. The validity and accuracy of blood lactate measurements for prediction of maximal endurance running capacity. Dependency of analyzed blood media in combination with different designs of the exercise test. **Int J Sports Med**, v. 15, n. 2, p. 89-95, Feb 1994.

GITT, A. K.; WASSERMAN, K.; KILKOWSKI, C.; KLEEMANN, T.; KILKOWSKI, A.; BANGERT, M.; SCHNEIDER, S.; SCHWARZ, A.; SENGES, J. Exercise anaerobic threshold and ventilatory efficiency identify heart failure patients for high risk of early death. **Circulation**, v. 106, n. 24, p. 3079-84, Dec 10 2002.

GOBATTO, C. A.; DE MELLO, M. A.; SIBUYA, C. Y.; DE AZEVEDO, J. R.; DOS SANTOS, L. A.; KOKUBUN, E. Maximal lactate steady state in rats submitted to swimming exercise. **Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol**, v. 130, n. 1, p. 21-7, Aug 2001.

HALLAL, P. C.; VICTORA, C. G. Reliability and validity of the International Physical Activity Questionnaire (IPAQ). **Med Sci Sports Exerc**, v. 36, n. 3, p. 556, Mar 2004.

HAUSER, T.; BARTSCH, D.; BAUMGARTEL, L.; SCHULZ, H. Reliability of Maximal Lactate-Steady-State. **Int J Sports Med**, Sep 12 2012.

HECK, H.; MADER, A.; HESS, G.; MUCKE, S.; MULLER, R.; HOLLMANN, W. Justification of the 4-mmol/l lactate threshold. **Int J Sports Med**, v. 6, n. 3, p. 117-30, Jun 1985.

HOPKINS, W. G. Measures of reliability in sports medicine and science. **Sports Med**, v. 30, n. 1, p. 1-15, Jul 2000.

HOPKINS, W. G.; SCHABORT, E. J.; HAWLEY, J. A. Reliability of power in physical performance tests. **Sports Med**, v. 31, n. 3, p. 211-34, 2001.

HUGHES, E. F.; TURNER, S. C.; BROOKS, G. A. Effects of glycogen depletion and pedaling speed on "anaerobic threshold". **J Appl Physiol**, v. 52, n. 6, p. 1598-607, Jun 1982.

JACKSON, A. S.; POLLOCK, M. L. Generalized equations for predicting body density of men. **Br J Nutr**, v. 40, n. 3, p. 497-504, Nov 1978.

JENKINS, D. G.; QUIGLEY, B. M. Blood lactate in trained cyclists during cycle ergometry at critical power. **Eur J Appl Physiol Occup Physiol**, v. 61, n. 3-4, p. 278-83, 1990.

JENKINS, D. G.; QUIGLEY, B. M. Endurance training enhances critical power. **Med Sci Sports Exerc**, v. 24, n. 11, p. 1283-9, Nov 1992.

JONES, A. M.; DOUST, J. H. The validity of the lactate minimum test for determination of the maximal lactate steady state. **Med Sci Sports Exerc**, v. 30, n. 8, p. 1304-13, Aug 1998.

KATCH, V.; WELTMAN, A.; SADY, S.; FREEDSON, P. Validity of the relative percent concept for equating training intensity. **Eur J Appl Physiol Occup Physiol**, v. 39, n. 4, p. 219-27, Oct 20 1978.

KINDERMANN, W.; SIMON, G.; KEUL, J. The significance of the aerobic-anaerobic transition for the determination of work load intensities during endurance training. **Eur J Appl Physiol Occup Physiol**, v. 42, n. 1, p. 25-34, Sep 1979.

KOUFAKI, P.; MERCER, T. H.; NAISH, P. F. Effects of exercise training on aerobic and functional capacity of end-stage renal disease patients. **Clin Physiol Funct Imaging**, v. 22, n. 2, p. 115-24, Mar 2002.

LAPLAUD, D.; GUINOT, M.; FAVRE-JUVIN, A.; FLORE, P. Maximal lactate steady state determination with a single incremental test exercise. **Eur J Appl Physiol**, v. 96, n. 4, p. 446-52, Mar 2006.

LEHMANN, M.; KEUL, J.; WYBITUL, K. [Plasma catecholamines, metabolic substrates, aerobic and anaerobic capacity during graduated treadmill and bicycle ergometer exercise (author's transl)]. **Klin Wochenschr**, v. 59, n. 11, p. 553-9, Jun 1 1981.

LENTI, M.; DE VITO, G.; DI PALUMBO, A. S.; SBRICCOLI, P.; QUATTRINI, F. M.; SACCHETTI, M. Effects of Aging and Training Status on Ventilatory Response during Incremental Cycling Exercise. **Journal of Strength and Conditioning Research**, v. 25, n. 5, p. 1326-1332, May 2011.

LUCIA, A.; HOYOS, J.; CHICHARRO, J. L. Physiology of professional road cycling. **Sports Med**, v. 31, n. 5, p. 325-37, 2001.

MANCHADO-GOBATTO, F. B.; GOBATTO, C. A.; CONTARTEZE, R. V.; MELLO, M. A. Non-exhaustive test for aerobic capacity determination in running rats. **Indian J Exp Biol**, v. 49, n. 10, p. 781-5, Oct 2011.

MANCHADO, F. B.; GOBATTO, C. A.; VOLTARELLI, F. A.; DE MELLO, M. A. R. Non-exhaustive test for aerobic capacity determination in swimming rats. **Appl. Physiol. Nutr. Metab.**, v. 31, p. 731-736, 2006.

MATSUMURA, N.; NISHIJIMA, H.; KOJIMA, S.; HASHIMOTO, F.; MINAMI, M.; YASUDA, H. Determination of anaerobic threshold for assessment of functional state in patients with chronic heart failure. **Circulation**, v. 68, n. 2, p. 360-7, Aug 1983.

MAZZEO, R. S.; MARSHALL, P. Influence of plasma catecholamines on the lactate threshold during graded exercise. **J Appl Physiol**, v. 67, n. 4, p. 1319-22, Oct 1989.

MCLELLAN, T. M.; JACOBS, I. Reliability, reproducibility and validity of the individual anaerobic threshold. **Eur J Appl Physiol Occup Physiol**, v. 67, n. 2, p. 125-31, 1993.

MEDELLI, J.; MAINGOURD, Y.; BOUFERRACHE, B.; BACH, V.; FREVILLE, M.; LIBERT, J. P. Maximal oxygen uptake and aerobic-anaerobic transition on treadmill and bicycle in triathletes. **Jpn J Physiol**, v. 43, n. 3, p. 347-60, 1993.

MEDICINE, A. C. O. S. **Guidelines for graded exercise testing and prescription**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1991.

MEYER, T.; GABRIEL, H. H.; KINDERMANN, W. Is determination of exercise intensities as percentages of VO₂max or HRmax adequate? **Med Sci Sports Exerc**, v. 31, n. 9, p. 1342-5, Sep 1999.

MEYER, T.; GORGE, G.; SCHWAAB, B.; HILDEBRANDT, K.; WALLDORF, J.; SCHAFER, C.; KINDERMANN, I.; SCHARHAG, J.; KINDERMANN, W. An alternative approach for exercise prescription and efficacy testing in patients with

chronic heart failure: a randomized controlled training study. **Am Heart J**, v. 149, n. 5, p. e1-7, May 2005.

MEYER, T.; LUCIA, A.; EARNEST, C. P.; KINDERMANN, W. A conceptual framework for performance diagnosis and training prescription from submaximal gas exchange parameters--theory and application. **Int J Sports Med**, v. 26 Suppl 1, p. S38-48, Feb 2005.

MONOD, H.; SCHERRER, J. The work capacity of a synergic muscular group. **Ergonomics**, v. 8, p. 329-338, 1965.

MYERS, J.; BUCHANAN, N.; SMITH, D.; NEUTEL, J.; BOWES, E.; WALSH, D.; FROELICHER, V. F. Individualized ramp treadmill. Observations on a new protocol. **Chest**, v. 101, n. 5 Suppl, p. 236S-241S, May 1992.

MYERS, J.; BUCHANAN, N.; WALSH, D.; KRAEMER, M.; MCAULEY, P.; HAMILTON-WESSLER, M.; FROELICHER, V. F. Comparison of the ramp versus standard exercise protocols. **J Am Coll Cardiol**, v. 17, n. 6, p. 1334-42, May 1991.

OLDER, P.; HALL, A.; HADER, R. Cardiopulmonary exercise testing as a screening test for perioperative management of major surgery in the elderly. **Chest**, v. 116, n. 2, p. 355-62, Aug 1999.

OLDER, P.; SMITH, R.; COURTNEY, P.; HONE, R. Preoperative evaluation of cardiac failure and ischemia in elderly patients by cardiopulmonary exercise testing. **Chest**, v. 104, n. 3, p. 701-4, Sep 1993.

OROK, C. J.; HUGHSON, R. L.; GREEN, H. J.; THOMSON, J. A. Blood lactate responses in incremental exercise as predictors of constant load performance. **Eur J Appl Physiol Occup Physiol**, v. 59, n. 4, p. 262-7, 1989.

PAGE, E.; COHEN-SOLAL, A.; JONDEAU, G.; DOUARD, H.; ROUL, G.; KANTELIP, J. P.; BUSSIÈRE, J. L. Comparison of treadmill and bicycle exercise in patients with chronic heart failure. **Chest**, v. 106, n. 4, p. 1002-6, Oct 1994.

PEDRO, R. E.; MILANEZ, V. F.; BOULLOSA, D. A.; NAKAMURA, F. Y. Running Speeds at Ventilatory Threshold and Maximal Oxygen Consumption Discriminate Futsal Competitive Level. **Journal of Strength and Conditioning Research**, v. 27, n. 2, p. 514-518, Feb 2013.

PORSZASZ, J.; CASABURI, R.; SOMFAY, A.; WOODHOUSE, L. J.; WHIPP, B. J. A treadmill ramp protocol using simultaneous changes in speed and grade. **Med Sci Sports Exerc**, v. 35, n. 9, p. 1596-603, Sep 2003.

PRINGLE, J. S.; JONES, A. M. Maximal lactate steady state, critical power and EMG during cycling. **Eur J Appl Physiol**, v. 88, n. 3, p. 214-26, Dec 2002.

PUENTE-MAESTU, L.; SANZ, M. L.; SANZ, P.; CUBILLO, J. M.; MAYOL, J.; CASABURI, R. Comparison of effects of supervised versus self-monitored training programmes in patients with chronic obstructive pulmonary disease. **Eur Respir J**, v. 15, n. 3, p. 517-25, Mar 2000.

ROBERGS, R. A.; DWYER, D.; ASTORINO, T. Recommendations for improved data processing from expired gas analysis indirect calorimetry. **Sports Med**, v. 40, n. 2, p. 95-111, Feb 1 2010.

ROBERGS, R. A.; GHIASVAND, F.; PARKER, D. Biochemistry of exercise-induced metabolic acidosis. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, v. 287, n. 3, p. R502-16, Sep 2004.

SAIKI, H.; MARGARIA, R.; CUTTICA, F. Lactic acid production in submaximal work. **Int Z Angew Physiol**, v. 24, n. 1, p. 57-61, 1967.

SAKKAS, G. K.; SARGEANT, A. J.; MERCER, T. H.; BALL, D.; KOUFAKI, P.; KARATZAFERI, C.; NAISH, P. F. Changes in muscle morphology in dialysis patients after 6 months of aerobic exercise training. **Nephrol Dial Transplant**, v. 18, n. 9, p. 1854-61, Sep 2003.

SCHEEN, A.; JUCHMES, J.; CESSION-FOSSION, A. Critical analysis of the "anaerobic threshold" during exercise at constant workloads. **Eur J Appl Physiol Occup Physiol**, v. 46, n. 4, p. 367-77, 1981.

SID-ALI, B.; VANDEWALLE, H.; CHAIR, K.; MOREAUX, A.; MONOD, H. Lactate steady state velocity and distance-exhaustion time relationship in running. **Arch Int Physiol Biochim Biophys**, v. 99, n. 4, p. 297-301, Aug 1991.

SIMON, J.; YOUNG, J. L.; GUTIN, B.; BLOOD, D. K.; CASE, R. B. Lactate accumulation relative to the anaerobic and respiratory compensation thresholds. **J Appl Physiol**, v. 54, n. 1, p. 13-7, Jan 1983.

SIRI, W. E. Body composition from fluid spaces and density: analysis of methods. 1961. **Nutrition**, v. 9, n. 5, p. 480-91; discussion 480, 492, Sep-Oct 1993.

SMITH, C. G.; JONES, A. M. The relationship between critical velocity, maximal lactate steady-state velocity and lactate turnpoint velocity in runners. **Eur J Appl Physiol**, v. 85, n. 1-2, p. 19-26, Jul 2001.

SMITH, T. B.; STONELL, C.; PURKAYASTHA, S.; PARASKEVAS, P. Cardiopulmonary exercise testing as a risk assessment method in non cardiopulmonary surgery: a systematic review. **Anaesthesia**, v. 64, n. 8, p. 883-93, Aug 2009.

STEGMANN, H.; KINDERMANN, W.; SCHNABEL, A. Lactate kinetics and individual anaerobic threshold. **Int J Sports Med**, v. 2, n. 3, p. 160-5, Aug 1981.

SULLIVAN, M. J.; HIGGINBOTHAM, M. B.; COBB, F. R. Exercise training in patients with chronic heart failure delays ventilatory anaerobic threshold and improves submaximal exercise performance. **Circulation**, v. 79, n. 2, p. 324-9, Feb 1989.

SVEDAHL, K.; MACINTOSH, B. R. Anaerobic threshold: the concept and methods of measurement. **Can J Appl Physiol**, v. 28, n. 2, p. 299-323, Apr 2003.

TANEHATA, M.; ADACHI, H.; OSHIMA, S.; TANIGUCHI, K.; ITOH, H.; HASEGAWA, A.; NAGAI, R. The time from anaerobic threshold (AT) to respiratory compensation point reflects the rate of aerobic and anaerobic metabolism after the AT in chronic heart failure patients. **Jpn Circ J**, v. 63, n. 4, p. 274-7, Apr 1999.

TEGTBUR, U.; BUSSE, M. W.; BRAUMANN, K. M. Estimation of an individual equilibrium between lactate production and catabolism during exercise. **Med Sci Sports Exerc**, v. 25, n. 5, p. 620-7, May 1993.

URHAUSEN, A.; COEN, B.; WEILER, B.; KINDERMANN, W. Individual anaerobic threshold and maximum lactate steady state. **Int J Sports Med**, v. 14, n. 3, p. 134-9, Apr 1993.

WASSERMAN, K. Anaerobic threshold and cardiovascular function. **Monaldi Arch Chest Dis**, v. 58, n. 1, p. 1-5, May 2002.

WASSERMAN, K.; WHIPP, B. J. Exercise physiology in health and disease. **Am Rev Respir Dis**, v. 112, n. 2, p. 219-49, Aug 1975.

WASSERMAN, K.; WHIPP, B. J.; KOYL, S. N.; BEAVER, W. L. Anaerobic threshold and respiratory gas exchange during exercise. **J Appl Physiol**, v. 35, n. 2, p. 236-43, Aug 1973.

WELTMAN, A.; SNEAD, D.; STEIN, P.; SEIP, R.; SCHURRER, R.; RUTT, R.; WELTMAN, J. Reliability and validity of a continuous incremental treadmill protocol for the determination of lactate threshold, fixed blood lactate concentrations, and VO₂max. **Int J Sports Med**, v. 11, n. 1, p. 26-32, Feb 1990.

WESTON, S. B.; GABBETT, T. J. Reproducibility of ventilation of thresholds in trained cyclists during ramp cycle exercise. **J Sci Med Sport**, v. 4, n. 3, p. 357-66, Sep 2001.

YAMAMOTO, Y.; MIYASHITA, M.; HUGHSON, R. L.; TAMURA, S.; SHINOHARA, M.; MUTOH, Y. The ventilatory threshold gives maximal lactate steady state. **Eur J Appl Physiol Occup Physiol**, v. 63, n. 1, p. 55-9, 1991.

YOSHIDA, T. Effect of exercise duration during incremental exercise on the determination of anaerobic threshold and the onset of blood lactate accumulation. **Eur J Appl Physiol Occup Physiol**, v. 53, n. 3, p. 196-9, 1984.

ZAGATTO, A. M.; BECK, W. R.; GOBATTO, C. A. Validity of the running anaerobic sprint test for assessing anaerobic power and predicting short-distance performances. **J Strength Cond Res**, v. 23, n. 6, p. 1820-7, Sep 2009.

ANEXOS

ANEXO 1 – TERMO DE COMPROMISSO LIVRE E ESCLARECIDO

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS FACULDADE DE CIÊNCIAS APLICADAS

LABORATÓRIO DE FISILOGIA APLICADA AO ESPORTE

TERMO DE CONSENTIMENTO ESCLARECIDO

Convido você à participar voluntariamente do projeto de pesquisa intitulado “**VALIDADE DO PROTOCOLO DE DUPLOS ESFORÇOS NÃO-EXAUSTIVOS (DENE)**”. O objetivo desta pesquisa é de testar um novo método de avaliação do condicionamento físico de indivíduos portadores de cardiopatia. Este método sendo não-exaustivo traz uma maior segurança comparado aos métodos exaustivos utilizados atualmente nos hospitais para a prescrição de treinamento físico. Para isso, durante sete a oito visitas ao laboratório da UNICAMP - FCA você realizará exercícios em esteira rolante, aonde terá que correr em velocidades baixas, médias e altas. Eventualmente você utilizará durante os esforços uma máscara de analisador de gases respiratórios, um cinto de cardiofrequencímetro e 25uL de sangue (aproximadamente uma gota) será coletado do lóbulo de sua orelha, os quais serão armazenados para posterior análise do lactato sanguíneo, sendo todas as medidas tomadas de acordo com a Resolução 441/2011. Os riscos e desconfortos envolvidos são aqueles inerentes à realização de exercício de leve a intenso, ou seja, cansaço físico e, em raros casos, náuseas ou dor muscular, assim como um leve ardor no lóbulo da orelha devido à coleta sanguínea. Estes podem ser minimizados uma vez que o laboratório conta com pessoal e equipamento para pronto atendimento e as coletas de sangue sendo realizadas por um profissional experiente com o uso de materiais esterilizados e descartáveis. Todos os testes serão acompanhados por profissional treinado e habilitado. Os equipamentos a serem utilizados não apresentam riscos a sua saúde. Você terá acesso a todas as informações referentes aos testes e procedimentos a que for submetido antes, durante e ao final da pesquisa, sendo os resultados disponibilizados por meio de um relatório final o qual lhe será explicado pessoalmente pelo pesquisador responsável. Você poderá também se recusar a participar do estudo ou mesmo se retirar do estudo a qualquer momento sem lhe acarretar qualquer prejuízo. Pela participação no estudo você não receberá qualquer valor em dinheiro, mas terá a garantia de que todas as despesas necessárias à realização da pesquisa não serão de sua responsabilidade. Finalmente, seu nome ou imagem não serão expostos sob quaisquer circunstâncias. Este termo de consentimento livre e esclarecido será assinado em duas vias, uma ficará em posse do pesquisador responsável e a outra com você. Em caso de dúvidas você poderá entrar em contato com o pesquisador responsável pelo telefone: (19) 8333-3195, e-mail: lucas.dmf@hotmail.com. Ou com o CEP/FIEL pelo telefone: (19) 3444-6612, e-mail: cep_fiel@hotmail.com.

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE, APÓS ESCLARECIMENTO.

Eu, _____
li e/ou ouvi o esclarecimento acima e compreendi os objetivos do estudo e procedimentos aos quais serei submetido. As informações esclarecem riscos e benefícios do estudo, deixando claro que sou livre para interromper minha participação a qualquer momento, sem justificar minha decisão. Sei que meu nome não será divulgado, que não terei despesas e não receberei dinheiro para participar do estudo.

Eu concordo em participar do estudo.	
Limeira, ____/____/____	
	Identidade:
Assinatura Voluntário	TEL:
Lucas Dantas Maia Forte CPF: 084.850.254-07	
Pesquisador Responsável	

ANEXO 2 – PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA

Plataforma Brasil - Ministério da Saúde

Faculdade Integradas Einstein de Limeira - FIEL/SP

PROJETO DE PESQUISA

Título: VALIDADE DO PROTOCOLO DE DUPLOS ESFORÇOS NÃO-EXAUSTIVOS (DENE)

Área Temática: Área 5. Novos procedimentos ainda não consagrados na literatura.

Pesquisador: Lucas Dantas Maia Forte

Versão: 3

Instituição: Faculdade de Ciências Médicas - UNICAMP

CAAE: 00846812.9.0000.5424

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

Número do Parecer: 40713

Data da Relatoria: 21/06/2012

Apresentação do Projeto:

Verificar a validade e reprodutibilidade do protocolo de duplo esforços não exaustivos proposto por Chassain em 1986. Assim, serão realizados testes de rampa em 12 sujeitos saudáveis do sexo masculino, para a determinação do Limiar Anaeróbio e VO2 pico, seguido de aplicação do teste de Chassain para determinação da velocidade crítica(km/h), com repetição após 48 horas. Em seguida serão realizados 4 testes de velocidade constante, em diferentes intensidades para determinação da Maxima Fase Estável de Lactato (MFEL). Os dados serão, posteriormente, tabulados em planilha eletrônica (EXCEL, 2003) e transferidos para o programa SAS (Statistical Analysis System) versão 9.1.3. Espera-se com o estudo, reproduzir os mesmos valores das velocidades críticas do teste e re teste do protocolo de Chassain com diferenças significativas nos valores de MFEL.

Objetivo da Pesquisa:

Validar cientificamente o protocolo de duplos esforços não exaustivos, comparando os valores encontrados da velocidade crítica com os da máxima fase estável de lactato, bem como, analisar uma possível correlação, entre estes valores e, aplicação de teste e re-teste do protocolo de duplos esforços não exaustivos, para verificar se há reprodutibilidade do mesmo, estão condizentes com o projeto.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

O pesquisador adequou o texto incorporando as solicitações deste colegiado para que fossem acrescentados os riscos durante a coleta de sangue do voluntário, ou seja, segundo ele os riscos e desconfortos envolvidos são aqueles inerentes à realização de exercício de leve a moderado e ao procedimento de coleta sanguínea, ou seja, ardor no lóbulo da orelha, cansaço físico e, em raros casos, náuseas ou dor muscular. Todos os testes serão acompanhados por profissional habilitado e medidas preventivas serão tomadas a fim de se minimizar os problemas citados. Os equipamentos a serem utilizados não apresentam riscos a sua saúde. Quanto aos benefícios aos sujeitos, o pesquisador também acatou as solicitações indicando que os sujeitos poderão ter acesso a todas as informações referentes aos testes e procedimentos a que for submetido e que ao final do experimento os mesmos receberão um relatório final informando os resultados individuais de cada voluntário (cada voluntário receberá apenas os resultados do próprio teste) sendo estes resultados elucidados também pessoalmente pelo próprio pesquisador. Sobre os Benefícios Gerais da Pesquisa, o pesquisador acrescenta que a mesma aborda um método diferente para avaliação da capacidade aeróbia, que se validado, representará uma importante ferramenta e segura para avaliação e prescrição de treinamento individual para pacientes portadores de doenças crônico-degenerativas.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Conforme referido em relatoria anterior, uma vez que os protocolos atuais para testes de esforços são, normalmente, compostos por exercícios exaustivos, tanto no caráter prático, quando no tempo de execução, consideramos um estudo de grande relevância em seu contexto clínico e, também técnico-científico.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

- Palavras-chave: apresenta as palavras-chave adequadas.
- Resumo: Presente e compatível, e identifica as coletas das amostras de sangue e, seus procedimentos metodológicos.
- Metodologia Proposta: Consistente com os objetivos propostos, detalhando os procedimentos para a coleta de sangue(quem a realizará, o local da coleta, o momento em que será realizada esta coleta, bem como o tipo de análise a que será processada, posteriormente).

- O desfecho primário é condizente com a revisão de literatura e hipótese apresentada.
- Os critérios de exclusão foram adequados segundo solicitação feita.
- Foi devidamente corrigido a não retenção de amostras para armazenamento em banco.
- O cronograma foi corretamente adequado.
- TCLE: Foi adequado seguindo as solicitações propostas. Porém deve estar atento as recomendações propostas.
- Todas as declarações em que houve solicitação de correções se encontram adequadas.

Recomendações:

1. Referente ao TCLE:

a. De acordo com a Carta Circular Nº. 003/2011/CONEP/CNS, tendo em vista sua vulnerabilidade no momento de adesão a um protocolo de pesquisa, o sujeito de pesquisa ou seu representante, quando for o caso, bem como o pesquisador responsável, deverão rubricar todas as folhas do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e TCLE, apondo suas assinaturas na última página do referido Termo. Solicitam-se adequações.

b. Ressalta-se que os sujeitos da pesquisa que vierem a sofrer qualquer tipo de dano previsto ou não no termo de consentimento e resultante de sua participação no estudo, além do direito à assistência integral, têm direito à indenização, conforme itens V.5 e V.6 da Resolução CNS 196/96. Assim, o sujeito de pesquisa tem direito a ser indenizado seja o dano provocado pela técnica/medicamento em estudo ou por má prática médica. Solicita-se, portanto, que além da garantia de que todas as despesas necessárias à realização da pesquisa não serão de sua responsabilidade (do sujeito de pesquisa), solicite-se que sejam garantido o direito à assistência integral e a indenização em caso de qualquer dano relacionado à pesquisa.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Todas as solicitações propostas anteriormente por este colegiado foram atendidas e se apresentaram adequadas. Portanto, a presente pesquisa se encontra nos padrões éticos propostos pela Resolução 196/96, sendo recomendada sua aprovação.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

Todas as solicitações propostas anteriormente por este colegiado foram atendidas e se apresentaram adequadas. Portanto, a presente pesquisa se encontra nos padrões éticos propostos pela Resolução 196/96, sendo recomendada sua aprovação.

LIMEIRA, 21 de Junho de 2012

Assinado por:

Solange Aparecida Rossini de Oliveira

ANEXO 3 - INTERNATIONAL PHYSICAL ACTIVITY QUESTIONNAIRE (IPAQ)**IPAQ – Questionário Internacional de Atividade Física
(forma curta)**

Nome: _____

Data: __/__/__

Idade: _____

Sexo: M () F ()

Assinatura

Este questionário tem como objetivo caracterizar o seu nível de atividade física. Para isso, orientamos que você responda as questões levando em consideração um período de sete dias cotidianos (uma semana **NORMAL, HABITUAL**). As perguntas se referem às atividades do seu cotidiano realizadas durante o trabalho, em casa (serviços gerais), deslocamento de um lugar para o outro e as atividades realizadas durante o tempo ocioso de recreação, exercício ou esporte. Por favor, responda cada questão mesmo que considere que não seja ativo.

Pense nas atividades **VIGOROSAS** realizadas durante uma semana comum. Considere **VIGOROSAS** as atividades que requerem um ALTO ESFORÇO e que fazem você respirar MUITO INTENSAMENTE, muito mais que o normal. Pense apenas nas atividades com duração de no MÍNIMO 10min.

1. Durante uma semana normal, em quantos dias você realiza uma atividade **vigorosa** como correr muito, pedalar rápido, ginástica aeróbia, jogar futebol, musculação, carregar pesos elevados ou qualquer atividade que te faz suar BASTANTE e que aumentem MUITO sua respiração?

_____ dias

() Nenhum (*ir para questão 3*)

2. Quanto tempo em média você passa realizando uma atividade **vigorosa** em um desses dias.

_____ horas

_____ minutos

Pense nas atividades **MODERADAS** realizadas durante uma semana comum. Considere **MODERADAS** as atividades que requerem um esforço físico MODERADO e que fazem você respirar de alguma forma mais que o normal. Pense apenas nas atividades com duração de no MÍNIMO 10min.

3. Durante uma semana normal, em quantos dias você realiza uma atividade **moderada** como carregar pesos leves, pedalar leve na bicicleta, dançar, jogar vôlei recreativo, fazer serviços domésticos leves (varrer, aspirar, cuidar do jardim) ou qualquer atividade que te faz suar LEVE e que aumentem MODERADAMENTE sua respiração? (FAVOR NÃO INCLUIR CAMINHADA)

_____ dias

() Nenhum (*ir para questão 5*)

4. Quanto tempo aproximadamente você passa realizando uma atividade **moderada** em **um** desses dias.

_____ horas

_____ minutos

Pense nas atividades de **CAMINHADA** realizadas durante uma semana comum. Considere **CAMINHADA** seus deslocamentos para casa/trabalho, de um lugar para o outro ou qualquer caminhada que você realiza por recreação ou exercício.

5. Durante uma semana normal, em quantos dias você realiza **caminhadas** de no mínimo 10min?

_____ dias

() Nenhum (*ir para questão 7*)

6. Quanto tempo aproximadamente você passa realizando **caminhadas** em **um** desses dias.

_____ horas

_____ minutos

A última questão diz respeito ao tempo em que você passa sentado seja no trabalho, escola ou em casa estudando, assistindo televisão e etc.

Quanto tempo você passa **sentado** em um dia de semana comum?

_____ horas

_____ minutos

Quanto tempo você passa **sentado** em um dia de final de semana comum?

_____ horas

_____ minutos

Este é o final do questionário, obrigado!

ANEXO 4 - CONFIRMAÇÃO DE SUBMISSÃO DE ARTIGO

17-Apr-2013

Dear Mr.
Forte,

Thank you for the submission of your manuscript entitled "Validity and reliability of a non-exhaustive double effort test for aerobic capacity evaluation" to the International Journal of Sports Medicine. Your manuscript will now go into the reviewing process.

Manuscript authors:

Forte, Lucas; Gobatto, Claudio

The manuscript ID is IJSM-04-2013-3525-tt.

Please note that only the corresponding author should contact the Editorial Office or journal editors regarding this manuscript. When doing so, please be sure to refer to the manuscript ID.

To to update your account information and/or change your password, please log in to <http://mc.manuscriptcentral.com/ijsm> and click on "Edit Account" in the upper right of the browser window. Corresponding authors and co-authors can also log in to their Author Center to follow the status of the manuscript (<http://mc.manuscriptcentral.com/ijsm>).

Sincerely,
International Journal of Sports Medicine Editorial Office

ANEXO 5 – ARTIGO

Running Head: International Journal of Sports Medicine

Title: Validity and reliability of a non-exhaustive double effort test for aerobic capacity evaluation.

Abstract

The aim of the present study was to evaluate the validity and reliability of a test composed by non-exhaustive double efforts (NEDE). Nineteen healthy male volunteers realized four aerobic capacity tests were executed on a motorized treadmill: (1) a ramp protocol for ventilatory threshold 1 (VT1) and 2 (VT2) determination; (2) constant workload exercises for maximal lactate steady state (MLSS) evaluation; (3) the proposed NEDE test based on oxygen uptake, blood lactate and heart rate measures ($NEDE_{VO_2,LAC,HR}$); (4) a retest of NEDE for reproducibility analysis. No difference was found among the NEDE determined by the VO_2 , lactate or heart rate and the VT1 ($p > 0.05$). $NEDE_{LAC,VO_2,HR}$ was statistically different from the MLSS and the VT2 ($p < 0.05$). The intraclass correlation coefficient (ICC) for test-retest of $NEDE_{LAC}$, $NEDE_{VO_2}$ and $NEDE_{HR}$ was respectively 0.87, 0.49 and 0.66 (for all, $p < 0.05$). ICC coefficient for consistency showed good correlation ($p < 0.05$) between $NEDE_{LAC,VO_2,HR}$ and VT1. The present study conclude that the NEDE test is a reliably protocol and capable of estimate the first ventilatory threshold by any of the three physiological variables measured, thus evaluating the aerobic capacity in healthy young adults by.

Keywords: Anaerobic threshold; Aerobic exercise; Exercise test; Work capacity evaluation; Training prescription; Rehabilitation.

Introduction

Two of the most important physiological parameters for aerobic evaluation and endurance training prescription are the metabolic transition zones known as the thresholds of anaerobic metabolism, usually determined by respiratory parameters or blood lactate measures (DEKERLE et al., 2003; KINDERMANN et al., 1979). The first disproportional increase of ventilation relative to oxygen

consumption during an incremental or ramp protocol indicates the start of anaerobic metabolism contribution to exercise and the first ventilatory threshold (VT1) (DEKERLE et al., 2003; GUILHEM et al., 2009; SMITH et al., 2009). Above it, the acidosis produced by anaerobic metabolism is buffered by bicarbonate and lactate production allowing the body to achieve balance between production and clearance of such metabolites. This is called isocapnic buffering stage (TANEHATA et al., 1999). When the production of acidosis surpass the capacity of buffering, the dioxide carbon and the protons H^+ causes a second disproportional increase in ventilation, characterizing the second ventilatory threshold (VT2) (DEKERLE et al., 2003; SMITH et al., 2009).

The VT1 is an important parameter on clinical trials, providing an evaluation of cardiopulmonary function and risk of mortality by cardiac events (MATSUMURA et al., 1983; OLDER et al., 1999; SMITH et al., 2009). In addition, the VT1 can be used for aerobic training prescription for patients injured by metabolic diseases (AOIKE et al., 2012; KOUFAKI et al., 2002; SAKKAS et al., 2003). In other hand, the second anaerobic threshold is most used in sports science. It can be determined also by different protocols based on biochemical analysis, principally by blood lactate measures (AUNOLA et al., 1992; DITTRICH et al., 2013; JONES et al., 1998). Among those protocols, the maximal lactate steady state test (MLSS) is considered as a gold standard procedure for the aerobic capacity assessment. Composed by constant load tests, it determines the highest intensity of isocapnic buffering stage (BILLAT et al., 2003).

In 1986, A. P. Chassain proposed a method for determining the AnT based on measurements of heart rate (HR) and lactate production at the end of two efforts of 3min duration at the same intensity and separated by 90s interval (CHASSAIN, 1986; DITTRICH et al., 2013). He suggested that this protocol could indicate an intensity of physiological equilibrium. Nevertheless, if this intensity was closer to the first or the second anaerobic threshold, it was not clear.

A few studies have compared procedures well established and widely used protocols for anaerobic thresholds determination with double effort tests similar (but not exactly equal) to the proposed by Chassain (MANCHADO-GOBATTO et al., 2011; MANCHADO et al., 2006; SID-ALI et al., 1991).

They showed positive results, suggesting that the test of non-exhaustive double efforts (NEDE) may be a good predictor of aerobic capacity.

Considering that the method proposed by Chassain (1986) is neither of long duration or high intensity exercises, it could be an interesting approach for evaluating the aerobic capacity of athletes or even physically active individuals, once it could be easily applied as a warm-up previously to each training section. Also, for patients with different metabolic diseases, it would not induce metabolic acidosis, hyperventilation, higher increases in HR and others physiological responses that could represent a risk for these individuals. However, the current literature lacks studies that attest the reliability and the validity of NEDE test, describing which physiological parameter it may represent.

Thus, the aim of the present study was to verify which physiological parameter is indicated by the NEDE test (achieved by lactate, VO_2 and HR measurements), comparing them with the MLSS, VT1 and the VT2. And also, evaluate the NEDE reliability with a test-retest approach (NEDE-1 and NEDE-2).

Methods

Nineteen healthy young male adults and moderately active (age 22.1 ± 3.1 years, height 178.1 ± 6.3 cm, body mass 75.1 ± 9.5 kg and body fat 10.5 ± 4.6 %) participated of the present study. All participants were informed of the risk and benefits of the present research and signed an informed consent form prior to the tests approved by the Ethics Committee of Human Research of the Integrated School Einstein of Limeira, protocol number: 12-03-184. The authors confirm that the procedures meets the ethical standards of the International Journal of Sports Medicine (HARRISS e ATKINSON, 2011).

During all the study, the volunteers were instructed to maintain the same nutritional habits, avoid high intensities exercises, caffeine and alcohol ingestion for the last 24 hr before each test. All the procedures were carried out on treadmill (Super ATL, Inbrasport, Brazil) at laboratory under a controlled environment to assure the same ambient conditions for all tests (22 ± 1.7 ° C temperatures and 50 ± 2.1 % relative humidity). After the anthropometric measurements, the volunteers performed an individualized

ramp protocol for determination of VT1, VT2 and $\text{VO}_{2\text{max}}$. The next tests were applied in random order (MLSS, NEDE-1 and NEDE-2). All volunteers completed all procedures in a period of 2-3 weeks.

After a 5 min warm up at 7 km.h^{-1} , the individualized ramp protocol (MYERS et al., 1992) were carried out on treadmill with fixed inclination at 0 % and speed constantly increased on a rate of 0,7 to $1,0 \text{ km.h}^{-1}.\text{min}^{-1}$ (depending on the individual characteristics) (MYERS et al., 1992) starting at 8 km.h^{-1} . During the whole test, the heart rate, ventilation and expired gas responses were continuous measured by a integrated, computerized breath-by-breath gas analyzer system Cosmed K4b² (Cosmed, Italy) which was calibrated before each test. The end of the test was determined by the following criteria: (1) achievement of a plateau in VO_2 (increase of less than $1.5 \text{ ml.kg}^{-1}.\text{min}^{-1}$), (2) reach the predicted maximal HR and/or (3) voluntary desistence. The data of O_2 uptake (VO_2), CO_2 output (VCO_2), expired ventilation (VE), and the equivalents for O_2 and CO_2 (VE/VO_2 , VE/VCO_2) were processed with a moving average of 15 steps, with the breath-averaged aligned to the centre of the time interval (eighth breath), this procedure aimed to reduce approximately 90 % of variability error inherent to any breath-by-breath gas analyzer system (ROBERGS et al., 2010).

The $\text{VO}_{2\text{max}}$ was determined as the highest 15 breath average value for O_2 uptake, as previously suggested (ROBERGS et al., 2010). The VT1 was characterized by the first rise on the ventilatory equivalent VE/VO_2 without a concomitant increase of the VE/VCO_2 (GUILHEM et al., 2009; SMITH et al., 2009). The VT2 was identified by the initial increase on the VE/VCO_2 (DEKERLE et al., 2003).

To evaluate the MLSS, the participants ran for 30 min at the intensity of VT2. Blood samples were collected from the ear lobe for lactate determination at rest and each 5 min until the end of the test. Another 2 or 3 different workloads were applied with a minimal interval of 24 hr between them. The higher intensity in which the blood lactate doesn't increase more than 1 mmol.L^{-1} between the 10th and the 30th min, was considered the intensity of the MLSS (iMLSS) and the average lactataemia at the 25th and 30th min, was considered the maximal lactate steady state concentration (cMLSS). The maximal difference between the iMLSS and a higher intensity was set to 0.5 km.h^{-1} allowing a good precision of the intensity determination.

The NEDE test consisted of four double efforts on different intensities, two applied at the same day and separated by a 60 min interval to allow a complete recovery of the individual and warrant the first test do not interfere on the second (BILLAT et al., 1994). The other two intensities were equally applied 24 hr later. Each double effort was composed by a first 3 min running followed by a 90 s rest interval, and a second 3 min running at the same intensity. At the end of the first 3 min running, the physiological variables of VO_{2-1} , HR-1 was measured by the gas analyzer integrated to a heart rate sensor and blood samples were collected for lactate analysis (LAC-1). The same variables were measured at the end of the second 3 min effort (VO_{2-2} , HR-2 and LAC-2). For each double effort, we calculated the variables deltas (ΔVO_2 , ΔHR and ΔLAC) by subtracting the value of the variables after the first 3 min from the values of the second 3 min (i.e. $\Delta\text{LAC} = \text{LAC-2} - \text{LAC-1}$). For each intensity, a ΔVO_2 , ΔHR and ΔLAC were obtained. The intensities were chosen to range from 70 % of $\text{VO}_{2\text{max}}$ to above VT2. A linear regression was plotted in a graphic with the deltas at x-axis and the intensities at the y-axis. The intensity predicted by the NEDE test (iNEDE) was determined by the null delta, indicated by the intercept of the y-axis (figure 1).

As successful criteria, we considered the linear regressions composed by at least three delta points, an adjustment coefficient of $R^2 \geq 0.7$ and positive angular coefficient. All tests that did not fit to these criteria were excluded from the analysis.

After local asepsis and an ear lobe puncture, 25 μl of blood were collected with a previously calibrated capillary tube. The blood was transferred to an eppendorf tube containing 400 μl of trichloroacetic acid at 4 % concentration and immediately stored at a temperature between 2 and 8 °C. Posterior analysis were carried on a microplate reader (ASYS Expert Plus UV, Biochrom) by the spectrophotometry method previously described (ENGEL e JONES, 1978).

The data are expressed in mean $\pm$ standard deviation. After data normality was attested by the Shapiro-Wilk test, the parametric analyses were applied. The one-way ANOVA for repeated measures was used for mean comparison of the parameters (VT1, VT2, iMLSS and iNEDE). In case of significant statistical difference, a Newmann-Keuls post hoc test was applied to indicate the difference among groups.

To verify the reliability of NEDE test-retest, the intraclass correlation coefficient (ICC; 2,1 fixed model for absolute agreement) was chosen and also the typical error was used to determine the coefficient of variation (CV) relative to the mean as suggested elsewhere (HOPKINS et al., 2001). ICC 2,1 fixed model for consistency was applied to verify possibly correlations among the variables analyzed. The significance level was set to $p < 0.05$.

Results

The mean $\pm$ SD for NEDE_{LAC,VO₂,HR}, VT1, VT2 and MLSS are presented in table 1. The ANOVA pointed a significant difference between the variables ($p = 0.002$). The post hoc indicate no difference among the NEDE determined by the variables of lactate, VO₂ and heart rate ($p > 0.05$). Significant difference were found for NEDE_{LAC,VO₂,HR} and VT1 vs VT2 and iMLSS ($p < 0.05$). For VT2 and iMLSS no statistical difference was found ($p > 0.05$). The cMLSS determined by the average of the 25th and 30th min was $3.62 \pm 1.27 \text{ mmol.L}^{-1}$.

The results for ICC reliability test (for absolute agreement) and CV are shown in table 2. The ICC for consistency between NEDE_{LAC,VO₂,HR} and VT1 was respectively 0.51, 0.82 and 0.53 ($p < 0.05$). Only the NEDE_{VO₂} present significant correlation coefficient with the VT2 (0.75). The iMLSS was correlated ($p < 0.05$) with the NEDE_{LAC,VO₂,HR} (0.80, 0.53 and 0.59 respectively).

Discussion

The zone of metabolic transition known as anaerobic threshold has been target of many studies in sports science due to its great value on aerobic capacity evaluation and training prescription (BILLAT et al., 2001; KINDERMANN et al., 1979). Many protocols have been developed to more easily and accurately estimate this parameter (BILLAT et al., 1994; DEKERLE et al., 2003; JONES et al., 1998). The MLSS, one of the most used protocols for aerobic capacity determination, is considered the highest lactataemia that can be equally produced and cleared from the blood circulation. The intensity that it occurs is taken as the anaerobic threshold intensity. Once above it, the lactate production surpasses the

capacity of clearance, leading to the concomitant accumulation of this metabolite and many orders like hydrogen protons (H⁺) which decrease the intracellular pH and lead the individual to fatigue (BARON et al., 2003).

At the present study, the mean for cMLSS was 3.62 ± 1.27 mmol.L⁻¹, similar to previous studies that found the blood lactate concentration varying from 2 to 4 mmol.L⁻¹ for different protocols including the constant load test (AUNOLA et al., 1992; DEKERLE et al., 2003). Dekerle et al. (2003) compared the intensities of VT1 and VT2 with the iMLSS on cycle ergometer and found that the VT1 and VT2 were statistically different from the iMLSS (VT1 < iMLSS < VT2), with the VT1 been more significant different (p<0.01). Our results are partly in accordance with those results, once the VT1 was found in lower intensities than iMLSS and VT2. However, we found no statistical difference between iMLSS and VT2. These results support the concept that MLSS test and the VT2 indicates the same intensity and physiological parameter (the highest intensity of isocapnic buffer) (AUNOLA et al., 1992; DEKERLE et al., 2003).

The ventilatory thresholds represent two intensities of metabolic transition zones. Both intensities are important parameters for aerobic evaluation. Tanehata et al. (1999) observed that the isocapnic phase (the distance from VT1 to VT2) could mean an valuable parameter for measure the rate of the aerobic and anaerobic metabolism in chronic heart failure patients (TANEHATA et al., 1999). Moreover, as mentioned before: no difference between VT2 and iMLSS, emphasizing the evaluative and prescriptive importance of VT2.

The first anaerobic threshold is a measure of cardiovascular and pulmonary function (SMITH et al., 2009). In a previous study, Older et al. (1999) realized a cardiopulmonary exercise test (CPET) in patients with cardiac disease and concluded that the VT1 is an excellent predictor for mortality from heart diseases (OLDER et al., 1999), suggesting it as a preoperative evaluation for this population . These conclusions were achieved also from many others studies, extolling the importance of VT1 for cardiac function evaluation (MATSUMURA et al., 1983; SMITH et al., 2009; TANEHATA et al., 1999).

Not only an evaluative assessment, the VT1 indicates the intensity that precedes anaerobic contribution for exercise, allowing its use also for training prescription (AOIKE et al., 2012; DENIS et al., 1982; KINDERMANN et al., 1979). Usually, the training for patients with some endocrine metabolic diseases are based on workloads relative to maximal oxygen uptake (VO_{2max}) (American College of Sports Medicine Position Stand. The recommended quantity and quality of exercise for developing and maintaining cardiorespiratory and muscular fitness, and flexibility in healthy adults, 1998), which implies on a non-specific intensity that may not represent the same individual physiological responses and adaptations (WASSERMAN, 1987). After 40 weeks of endurance training at the VT1 intensity, Denis et al. (1982) found significant changes on the muscular oxidative capacity and a delay on the VT1 (DENIS et al., 1982). Recently, a few studies found great results for patients with chronic kidney diseases that went under training at the first anaerobic threshold intensity (AOIKE et al., 2012; KOUFAKI et al., 2002; SAKKAS et al., 2003).

The non-exhaustive double effort method is based on the principle that: if the rest between two identical efforts is enough to clear the biological residuals left by the first one, the physiological responses from the second effort is equivalent to the first (CHASSAIN, 1986). Sid-Ali et al. (1991) applied a double effort protocol based on the proposed by Chassain (but different from the effort duration) and found good correlations with others protocols for aerobic capacity determination (SID-ALI et al., 1991). In two studies with rats, Manchado-Gobatto et al. (2006, 2011) compared a non exhaustive double effort with the MLSS and found no difference between the variables in rats during swimming (MANCHADO et al., 2006) or running exercise (MANCHADO-GOBATTO et al., 2011).

In this study, we submitted the individuals to the NEDE test exactly as proposed in 1986 (CHASSAIN, 1986). The iNEDE was determined by measurements of blood lactate ($NEDE_{LAC}$), oxygen uptake ($NEDE_{VO2}$) and heart rate ($NEDE_{HR}$). No difference between the three methods were found ($p < 0.05$). Also, the reproducibility ICC test shows good coefficients for test-retests NEDE from all three variables, however a better one for the $NEDE_{LAC}$ (see table 2). The coefficient of variation (CV) shows better results for $NEDE_{LAC}$ (5.1 %) in relation to $NEDE_{VO2}$ (9.0 %) and $NEDE_{HR}$ (11.7 %). Other studies

using CV as a reproducibility parameter for different protocols for anaerobic threshold determination found similar values to the present study, principally to the $NEDE_{LAC}$ (HAUSER et al., 2012; HOPKINS et al., 2001). Besides, the $NEDE_{LAC}$ shows better success rate (84 % for test and 100 % for retest) based by our exclusion criteria. However, $NEDE_{VO_2}$ and $NEDE_{HR}$ also showed good ICC and CV indices, suggesting that iNEDE can be predicted by both variables. This is an advantage for the application point of view since these are noninvasive and/or low cost methods.

When compared to the VT1, no difference were found with $iNEDE_{LAC,VO_2,HR}$ (see table 1). The ICC coefficients for consistency also showed significant correlations among the three iNEDE methods and the VT1. These results suggest that the NEDE test is a reliable and valid protocol for the first anaerobic threshold determination.

One of the great advantages of the proposed test is the needless of exhaustive test for aerobic capacity and cardiovascular function evaluating as well endurance and cardiac rehabilitation prescription in a secure intensity that do not leads the patient to an anaerobiosis state. Moreover, for sports practitioners the NEDE test may be inserted as a warm-up of a regular training day, without affecting the athlete's performance.

Conclusion

According to our results, we conclude that the proposed test (NEDE), determined by any of the three variables measured (lactate, VO_2 and HR) presents the same results among them and shows good indices of reliability from a test-retest approach. Also, despite it did not match to the MLSS, we found no differences among the $iNEDE_{LAC,VO_2,HR}$ and the VT1.

References

AINSWORTH, B. E.; HASKELL, W. L.; WHITT, M. C.; IRWIN, M. L.; SWARTZ, A. M.; STRATH, S. J.; O'BRIEN, W. L.; BASSETT, D. R., JR.; SCHMITZ, K. H.; EMPLAINCOURT, P. O.; JACOBS, D. R., JR.; LEON, A. S. Compendium of physical activities: an update of activity codes and MET intensities. **Med Sci Sports Exerc**, v. 32, n. 9 Suppl, p. S498-504, Sep 2000.

American College of Sports Medicine Position Stand. The recommended quantity and quality of exercise for developing and maintaining cardiorespiratory and muscular fitness, and flexibility in healthy adults. **Med Sci Sports Exerc**, v. 30, n. 6, p. 975-91, Jun 1998.

AOIKE, D. T.; BARIA, F.; ROCHA, M. L.; KAMIMURA, M. A.; MELLO, M. T.; TUFIK, S.; AMMIRATI, A.; CUPPARI, L. Impact of training at ventilatory threshold on cardiopulmonary and functional capacity in overweight patients with chronic kidney disease. **J Bras Nefrol**, v. 34, n. 2, p. 139-47, Jun 2012.

AUNOLA, S.; RUSKO, H. Does anaerobic threshold correlate with maximal lactate steady-state? **J Sports Sci**, v. 10, n. 4, p. 309-23, Aug 1992.

BARON, B.; DEKERLE, J.; ROBIN, S.; NEVIERE, R.; DUPONT, L.; MATRAN, R.; VANVELCENAHAR, J.; ROBIN, H.; PELAYO, P. Maximal lactate steady state does not correspond to a complete physiological steady state. **Int J Sports Med**, v. 24, n. 8, p. 582-7, Nov 2003.

BASSETT, D. R., JR.; HOWLEY, E. T. Limiting factors for maximum oxygen uptake and determinants of endurance performance. **Med Sci Sports Exerc**, v. 32, n. 1, p. 70-84, Jan 2000.

BEAVER, W. L.; WASSERMAN, K.; WHIPP, B. J. Bicarbonate buffering of lactic acid generated during exercise. **J Appl Physiol**, v. 60, n. 2, p. 472-8, Feb 1986.

BENEKE, R. Maximal lactate steady state concentration (MLSS): experimental and modelling approaches. **Eur J Appl Physiol**, v. 88, n. 4-5, p. 361-9, Jan 2003a.

BENEKE, R. Methodological aspects of maximal lactate steady state-implications for performance testing. **Eur J Appl Physiol**, v. 89, n. 1, p. 95-9, Mar 2003b.

BENEKE, R.; HUTLER, M.; LEITHAUSER, R. M. Maximal lactate-steady-state independent of performance. **Med Sci Sports Exerc**, v. 32, n. 6, p. 1135-9, Jun 2000.

BENEKE, R.; HUTLER, M.; VON DUVILLARD, S. P.; SELLENS, M.; LEITHAUSER, R. M. Effect of test interruptions on blood lactate during constant workload testing. **Med Sci Sports Exerc**, v. 35, n. 9, p. 1626-30, Sep 2003.

BENTLEY, D. J.; NEWELL, J.; BISHOP, D. Incremental exercise test design and analysis: implications for performance diagnostics in endurance athletes. **Sports Med**, v. 37, n. 7, p. 575-86, 2007.

BILLAT, V.; DALMAY, F.; ANTONINI, M. T.; CHASSAIN, A. P. A method for determining the maximal steady state of blood lactate concentration from two levels of submaximal exercise. **Eur J Appl Physiol Occup Physiol**, v. 69, n. 3, p. 196-202, 1994.

BILLAT, V. L.; DEMARLE, A.; SLAWINSKI, J.; PAIVA, M.; KORALSZTEIN, J. P. Physical and training characteristics of top-class marathon runners. **Med Sci Sports Exerc**, v. 33, n. 12, p. 2089-97, Dec 2001.

BILLAT, V. L.; SIRVENT, P.; PY, G.; KORALSZTEIN, J. P.; MERCIER, J. The concept of maximal lactate steady state: a bridge between biochemistry, physiology and sport science. **Sports Med**, v. 33, n. 6, p. 407-26, 2003.

BLAND, J. M.; ALTMAN, D. G. Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. **Lancet**, v. 1, n. 8476, p. 307-10, Feb 8 1986.

BUCHFUEHRER, M. J.; HANSEN, J. E.; ROBINSON, T. E.; SUE, D. Y.; WASSERMAN, K.; WHIPP, B. J. Optimizing the exercise protocol for cardiopulmonary assessment. **J Appl Physiol**, v. 55, n. 5, p. 1558-64, Nov 1983.

CASABURI, R.; PATESSIO, A.; IOLI, F.; ZANABONI, S.; DONNER, C. F.; WASSERMAN, K. Reductions in exercise lactic acidosis and ventilation as a result of exercise training in patients with obstructive lung disease. **Am Rev Respir Dis**, v. 143, n. 1, p. 9-18, Jan 1991.

CHASSAIN, A. P. Méthode d'appréciation objective de la tolérance de l'organisme à l'effort: application à la mesure des puissances critiques de la fréquence cardiaque et de la lactatémie. **Science & Sports**, v. 1, p. 41-48, 1986.

CHICHARRO, J. L.; PEREZ, M.; VAQUERO, A. F.; LUCIA, A.; LEGIDO, J. C. Lactic threshold vs ventilatory threshold during a ramp test on a cycle ergometer. **J Sports Med Phys Fitness**, v. 37, n. 2, p. 117-21, Jun 1997.

DEKERLE, J.; BARON, B.; DUPONT, L.; VANVELCENAHNER, J.; PELAYO, P. Maximal lactate steady state, respiratory compensation threshold and critical power. **Eur J Appl Physiol**, v. 89, n. 3-4, p. 281-8, May 2003.

DEKERLE, J.; PELAYO, P.; CLIPET, B.; DEPRETZ, S.; LEFEVRE, T.; SIDNEY, M. Critical swimming speed does not represent the speed at maximal lactate steady state. **Int J Sports Med**, v. 26, n. 7, p. 524-30, Sep 2005.

DENIS, C.; FOUQUET, R.; POTY, P.; GEYSSANT, A.; LACOUR, J. R. Effect of 40 weeks of endurance training on the anaerobic threshold. **Int J Sports Med**, v. 3, n. 4, p. 208-14, Nov 1982.

DITTRICH, N.; DE LUCAS, R. D.; MAIORAL, M. F.; DIEFENTHAELER, F.; GUGLIELMO, L. G. Continuous and intermittent running to exhaustion at maximal lactate steady state: Neuromuscular, biochemical and endocrinal responses. **J Sci Med Sport**, Feb 4 2013.

ENGEL, P. C.; JONES, J. B. Causes and elimination of erratic blanks in enzymatic metabolite assays involving the use of NAD⁺ in alkaline hydrazine buffers: improved conditions for the assay of L-glutamate, L-lactate, and other metabolites. **Anal Biochem**, v. 88, n. 2, p. 475-84, Aug 1 1978.

FAUDE, O.; KINDERMANN, W.; MEYER, T. Lactate threshold concepts: how valid are they? **Sports Med**, v. 39, n. 6, p. 469-90, 2009.

FOXDAL, P.; SJODIN, B.; SJODIN, A.; OSTMAN, B. The validity and accuracy of blood lactate measurements for prediction of maximal endurance running capacity. Dependency of analyzed blood media in combination with different designs of the exercise test. **Int J Sports Med**, v. 15, n. 2, p. 89-95, Feb 1994.

GITT, A. K.; WASSERMAN, K.; KILKOWSKI, C.; KLEEMANN, T.; KILKOWSKI, A.; BANGERT, M.; SCHNEIDER, S.; SCHWARZ, A.; SENGES, J. Exercise anaerobic threshold and ventilatory efficiency identify heart failure patients for high risk of early death. **Circulation**, v. 106, n. 24, p. 3079-84, Dec 10 2002.

GOBATTO, C. A.; DE MELLO, M. A.; SIBUYA, C. Y.; DE AZEVEDO, J. R.; DOS SANTOS, L. A.; KOKUBUN, E. Maximal lactate steady state in rats submitted to swimming exercise. **Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol**, v. 130, n. 1, p. 21-7, Aug 2001.

GUILHEM, G.; DOREL, S.; HUG, F. Effects of a prior short simulated training session on the subsequent occurrence of ventilatory thresholds. **J Sci Med Sport**, v. 12, n. 2, p. 273-9, Mar 2009.

HALLAL, P. C.; VICTORA, C. G. Reliability and validity of the International Physical Activity Questionnaire (IPAQ). **Med Sci Sports Exerc**, v. 36, n. 3, p. 556, Mar 2004.

HARRISS, D. J.; ATKINSON, G. Update--Ethical standards in sport and exercise science research. **Int J Sports Med**, v. 32, n. 11, p. 819-21, Nov 2011.

HAUSER, T.; BARTSCH, D.; BAUMGARTEL, L.; SCHULZ, H. Reliability of Maximal Lactate-Steady-State. **Int J Sports Med**, Sep 12 2012.

HECK, H.; MADER, A.; HESS, G.; MUCKE, S.; MULLER, R.; HOLLMANN, W. Justification of the 4-mmol/l lactate threshold. **Int J Sports Med**, v. 6, n. 3, p. 117-30, Jun 1985.

HOPKINS, W. G. Measures of reliability in sports medicine and science. **Sports Med**, v. 30, n. 1, p. 1-15, Jul 2000.

HOPKINS, W. G.; SCHABORT, E. J.; HAWLEY, J. A. Reliability of power in physical performance tests. **Sports Med**, v. 31, n. 3, p. 211-34, 2001.

HUGHES, E. F.; TURNER, S. C.; BROOKS, G. A. Effects of glycogen depletion and pedaling speed on "anaerobic threshold". **J Appl Physiol**, v. 52, n. 6, p. 1598-607, Jun 1982.

JACKSON, A. S.; POLLOCK, M. L. Generalized equations for predicting body density of men. **Br J Nutr**, v. 40, n. 3, p. 497-504, Nov 1978.

JENKINS, D. G.; QUIGLEY, B. M. Blood lactate in trained cyclists during cycle ergometry at critical power. **Eur J Appl Physiol Occup Physiol**, v. 61, n. 3-4, p. 278-83, 1990.

JENKINS, D. G.; QUIGLEY, B. M. Endurance training enhances critical power. **Med Sci Sports Exerc**, v. 24, n. 11, p. 1283-9, Nov 1992.

JONES, A. M.; DOUST, J. H. The validity of the lactate minimum test for determination of the maximal lactate steady state. **Med Sci Sports Exerc**, v. 30, n. 8, p. 1304-13, Aug 1998.

KATCH, V.; WELTMAN, A.; SADY, S.; FREEDSON, P. Validity of the relative percent concept for equating training intensity. **Eur J Appl Physiol Occup Physiol**, v. 39, n. 4, p. 219-27, Oct 20 1978.

KINDERMANN, W.; SIMON, G.; KEUL, J. The significance of the aerobic-anaerobic transition for the determination of work load intensities during endurance training. **Eur J Appl Physiol Occup Physiol**, v. 42, n. 1, p. 25-34, Sep 1979.

KOUFAKI, P.; MERCER, T. H.; NAISH, P. F. Effects of exercise training on aerobic and functional capacity of end-stage renal disease patients. **Clin Physiol Funct Imaging**, v. 22, n. 2, p. 115-24, Mar 2002.

LAPLAUD, D.; GUINOT, M.; FAVRE-JUVIN, A.; FLORE, P. Maximal lactate steady state determination with a single incremental test exercise. **Eur J Appl Physiol**, v. 96, n. 4, p. 446-52, Mar 2006.

LEHMANN, M.; KEUL, J.; WYBITUL, K. [Plasma catecholamines, metabolic substrates, aerobic and anaerobic capacity during graduated treadmill and bicycle ergometer exercise (author's transl)]. **Klin Wochenschr**, v. 59, n. 11, p. 553-9, Jun 1 1981.

LENTI, M.; DE VITO, G.; DI PALUMBO, A. S.; SBRICCOLI, P.; QUATTRINI, F. M.; SACCHETTI, M. Effects of Aging and Training Status on Ventilatory Response during Incremental Cycling Exercise. **Journal of Strength and Conditioning Research**, v. 25, n. 5, p. 1326-1332, May 2011.

LUCIA, A.; HOYOS, J.; CHICHARRO, J. L. Physiology of professional road cycling. **Sports Med**, v. 31, n. 5, p. 325-37, 2001.

MANCHADO-GOBATTO, F. B.; GOBATTO, C. A.; CONTARTEZE, R. V.; MELLO, M. A. Non-exhaustive test for aerobic capacity determination in running rats. **Indian J Exp Biol**, v. 49, n. 10, p. 781-5, Oct 2011.

MANCHADO, F. B.; GOBATTO, C. A.; VOLTARELLI, F. A.; DE MELLO, M. A. R. Non-exhaustive test for aerobic capacity determination in swimming rats. **Appl. Physiol. Nutr. Metab.**, v. 31, p. 731-736, 2006.

MATSUMURA, N.; NISHIJIMA, H.; KOJIMA, S.; HASHIMOTO, F.; MINAMI, M.; YASUDA, H. Determination of anaerobic threshold for assessment of functional state in patients with chronic heart failure. **Circulation**, v. 68, n. 2, p. 360-7, Aug 1983.

MAZZEO, R. S.; MARSHALL, P. Influence of plasma catecholamines on the lactate threshold during graded exercise. **J Appl Physiol**, v. 67, n. 4, p. 1319-22, Oct 1989.

MCLELLAN, T. M.; JACOBS, I. Reliability, reproducibility and validity of the individual anaerobic threshold. **Eur J Appl Physiol Occup Physiol**, v. 67, n. 2, p. 125-31, 1993.

MEDELLI, J.; MAINGOURD, Y.; BOUFERRACHE, B.; BACH, V.; FREVILLE, M.; LIBERT, J. P. Maximal oxygen uptake and aerobic-anaerobic transition on treadmill and bicycle in triathletes. **Jpn J Physiol**, v. 43, n. 3, p. 347-60, 1993.

MEDICINE, A. C. O. S. **Guidelines for graded exercise testing and prescription**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1991.

MEYER, T.; GABRIEL, H. H.; KINDERMANN, W. Is determination of exercise intensities as percentages of VO₂max or HR_{max} adequate? **Med Sci Sports Exerc**, v. 31, n. 9, p. 1342-5, Sep 1999.

MEYER, T.; GORGE, G.; SCHWAAB, B.; HILDEBRANDT, K.; WALLDORF, J.; SCHAFER, C.; KINDERMANN, I.; SCHARHAG, J.; KINDERMANN, W. An alternative approach for exercise prescription and efficacy testing in patients with chronic heart failure: a randomized controlled training study. **Am Heart J**, v. 149, n. 5, p. e1-7, May 2005.

MEYER, T.; LUCIA, A.; EARNEST, C. P.; KINDERMANN, W. A conceptual framework for performance diagnosis and training prescription from submaximal gas exchange parameters--theory and application. **Int J Sports Med**, v. 26 Suppl 1, p. S38-48, Feb 2005.

MONOD, H.; SCHERRER, J. The work capacity of a synergic muscular group. **Ergonomics**, v. 8, p. 329-338, 1965.

MYERS, J.; BUCHANAN, N.; SMITH, D.; NEUTEL, J.; BOWES, E.; WALSH, D.; FROELICHER, V. F. Individualized ramp treadmill. Observations on a new protocol. **Chest**, v. 101, n. 5 Suppl, p. 236S-241S, May 1992.

MYERS, J.; BUCHANAN, N.; WALSH, D.; KRAEMER, M.; MCAULEY, P.; HAMILTON-WESSLER, M.; FROELICHER, V. F. Comparison of the ramp versus standard exercise protocols. **J Am Coll Cardiol**, v. 17, n. 6, p. 1334-42, May 1991.

OLDER, P.; HALL, A.; HADER, R. Cardiopulmonary exercise testing as a screening test for perioperative management of major surgery in the elderly. **Chest**, v. 116, n. 2, p. 355-62, Aug 1999.

OLDER, P.; SMITH, R.; COURTNEY, P.; HONE, R. Preoperative evaluation of cardiac failure and ischemia in elderly patients by cardiopulmonary exercise testing. **Chest**, v. 104, n. 3, p. 701-4, Sep 1993.

OROK, C. J.; HUGHSON, R. L.; GREEN, H. J.; THOMSON, J. A. Blood lactate responses in incremental exercise as predictors of constant load performance. **Eur J Appl Physiol Occup Physiol**, v. 59, n. 4, p. 262-7, 1989.

PAGE, E.; COHEN-SOLAL, A.; JONDEAU, G.; DOUARD, H.; ROUL, G.; KANTELIP, J. P.; BUSSIÈRE, J. L. Comparison of treadmill and bicycle exercise in patients with chronic heart failure. **Chest**, v. 106, n. 4, p. 1002-6, Oct 1994.

PEDRO, R. E.; MILANEZ, V. F.; BOULLOSA, D. A.; NAKAMURA, F. Y. Running Speeds at Ventilatory Threshold and Maximal Oxygen Consumption Discriminate Futsal Competitive Level. **Journal of Strength and Conditioning Research**, v. 27, n. 2, p. 514-518, Feb 2013.

PORSZASZ, J.; CASABURI, R.; SOMFAY, A.; WOODHOUSE, L. J.; WHIPP, B. J. A treadmill ramp protocol using simultaneous changes in speed and grade. **Med Sci Sports Exerc**, v. 35, n. 9, p. 1596-603, Sep 2003.

PRINGLE, J. S.; JONES, A. M. Maximal lactate steady state, critical power and EMG during cycling. **Eur J Appl Physiol**, v. 88, n. 3, p. 214-26, Dec 2002.

PUENTE-MAESTU, L.; SANZ, M. L.; SANZ, P.; CUBILLO, J. M.; MAYOL, J.; CASABURI, R. Comparison of effects of supervised versus self-monitored training programmes in patients with chronic obstructive pulmonary disease. **Eur Respir J**, v. 15, n. 3, p. 517-25, Mar 2000.

ROBERGS, R. A.; DWYER, D.; ASTORINO, T. Recommendations for improved data processing from expired gas analysis indirect calorimetry. **Sports Med**, v. 40, n. 2, p. 95-111, Feb 1 2010.

ROBERGS, R. A.; GHIASVAND, F.; PARKER, D. Biochemistry of exercise-induced metabolic acidosis. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, v. 287, n. 3, p. R502-16, Sep 2004.

SAIKI, H.; MARGARIA, R.; CUTTICA, F. Lactic acid production in submaximal work. **Int Z Angew Physiol**, v. 24, n. 1, p. 57-61, 1967.

SAKKAS, G. K.; SARGEANT, A. J.; MERCER, T. H.; BALL, D.; KOUFAKI, P.; KARATZAFERI, C.; NAISH, P. F. Changes in muscle morphology in dialysis patients after 6 months of aerobic exercise training. **Nephrol Dial Transplant**, v. 18, n. 9, p. 1854-61, Sep 2003.

SCHEEN, A.; JUCHMES, J.; CESSION-FOSSION, A. Critical analysis of the "anaerobic threshold" during exercise at constant workloads. **Eur J Appl Physiol Occup Physiol**, v. 46, n. 4, p. 367-77, 1981.

SID-ALI, B.; VANDEWALLE, H.; CHAIR, K.; MOREAUX, A.; MONOD, H. Lactate steady state velocity and distance-exhaustion time relationship in running. **Arch Int Physiol Biochim Biophys**, v. 99, n. 4, p. 297-301, Aug 1991.

SIMON, J.; YOUNG, J. L.; GUTIN, B.; BLOOD, D. K.; CASE, R. B. Lactate accumulation relative to the anaerobic and respiratory compensation thresholds. **J Appl Physiol**, v. 54, n. 1, p. 13-7, Jan 1983.

SIRI, W. E. Body composition from fluid spaces and density: analysis of methods. 1961. **Nutrition**, v. 9, n. 5, p. 480-91; discussion 480, 492, Sep-Oct 1993.

SMITH, C. G.; JONES, A. M. The relationship between critical velocity, maximal lactate steady-state velocity and lactate turnpoint velocity in runners. **Eur J Appl Physiol**, v. 85, n. 1-2, p. 19-26, Jul 2001.

SMITH, T. B.; STONELL, C.; PURKAYASTHA, S.; PARASKEVAS, P. Cardiopulmonary exercise testing as a risk assessment method in non cardio-pulmonary surgery: a systematic review. **Anaesthesia**, v. 64, n. 8, p. 883-93, Aug 2009.

STEGMANN, H.; KINDERMANN, W.; SCHNABEL, A. Lactate kinetics and individual anaerobic threshold. **Int J Sports Med**, v. 2, n. 3, p. 160-5, Aug 1981.

SULLIVAN, M. J.; HIGGINBOTHAM, M. B.; COBB, F. R. Exercise training in patients with chronic heart failure delays ventilatory anaerobic threshold and improves submaximal exercise performance. **Circulation**, v. 79, n. 2, p. 324-9, Feb 1989.

SVEDAHL, K.; MACINTOSH, B. R. Anaerobic threshold: the concept and methods of measurement. **Can J Appl Physiol**, v. 28, n. 2, p. 299-323, Apr 2003.

TANEHATA, M.; ADACHI, H.; OSHIMA, S.; TANIGUCHI, K.; ITOH, H.; HASEGAWA, A.; NAGAI, R. The time from anaerobic threshold (AT) to respiratory compensation point reflects the rate of aerobic and anaerobic metabolism after the AT in chronic heart failure patients. **Jpn Circ J**, v. 63, n. 4, p. 274-7, Apr 1999.

TEGTBUR, U.; BUSSE, M. W.; BRAUMANN, K. M. Estimation of an individual equilibrium between lactate production and catabolism during exercise. **Med Sci Sports Exerc**, v. 25, n. 5, p. 620-7, May 1993.

URHAUSEN, A.; COEN, B.; WEILER, B.; KINDERMANN, W. Individual anaerobic threshold and maximum lactate steady state. **Int J Sports Med**, v. 14, n. 3, p. 134-9, Apr 1993.

WASSERMAN, K. Determinants and detection of anaerobic threshold and consequences of exercise above it. **Circulation**, v. 76, n. 6 Pt 2, p. VI29-39, Dec 1987.

WASSERMAN, K. Anaerobic threshold and cardiovascular function. **Monaldi Arch Chest Dis**, v. 58, n. 1, p. 1-5, May 2002.

WASSERMAN, K.; WHIPP, B. J. Exercise physiology in health and disease. **Am Rev Respir Dis**, v. 112, n. 2, p. 219-49, Aug 1975.

WASSERMAN, K.; WHIPP, B. J.; KOYL, S. N.; BEAVER, W. L. Anaerobic threshold and respiratory gas exchange during exercise. **J Appl Physiol**, v. 35, n. 2, p. 236-43, Aug 1973.

WELTMAN, A.; SNEAD, D.; STEIN, P.; SEIP, R.; SCHURRER, R.; RUTT, R.; WELTMAN, J. Reliability and validity of a continuous incremental treadmill protocol for the determination of lactate threshold, fixed blood lactate concentrations, and VO₂max. **Int J Sports Med**, v. 11, n. 1, p. 26-32, Feb 1990.

WESTON, S. B.; GABBETT, T. J. Reproducibility of ventilation of thresholds in trained cyclists during ramp cycle exercise. **J Sci Med Sport**, v. 4, n. 3, p. 357-66, Sep 2001.

YAMAMOTO, Y.; MIYASHITA, M.; HUGHSON, R. L.; TAMURA, S.; SHINOHARA, M.; MUTOH, Y. The ventilatory threshold gives maximal lactate steady state. **Eur J Appl Physiol Occup Physiol**, v. 63, n. 1, p. 55-9, 1991.

YOSHIDA, T. Effect of exercise duration during incremental exercise on the determination of anaerobic threshold and the onset of blood lactate accumulation. **Eur J Appl Physiol Occup Physiol**, v. 53, n. 3, p. 196-9, 1984.

ZAGATTO, A. M.; BECK, W. R.; GOBATTO, C. A. Validity of the running anaerobic sprint test for assessing anaerobic power and predicting short-distance performances. **J Strength Cond Res**, v. 23, n. 6, p. 1820-7, Sep 2009.

TABLE 1

Table 1.

Mean $\pm$ standard deviation (SD) of intensities (km.h^{-1}) of $\text{NEDE}_{\text{LAC,VO}_2\text{,HR}}$, VT1, VT2 and iMLSS.

	NEDE_{LAC}	$\text{NEDE}_{\text{VO}_2}$	NEDE_{HR}	VT1	VT2	iMLSS
	(n=16)	(n=13)	(n=14)	(n=18)^a	(n=19)	(n=19)
Mean (km.h^{-1})	10.54 ^{ab}	10.71 ^{ab}	9.79 ^{ab}	10.22 ^{ab}	12.59	12.13
SD	1.45	1.30	1.96	0.97	0.94	1.21

iMLSS = Maximal lactate steady state intensity; NEDE_{HR} , NEDE_{LAC} and $\text{NEDE}_{\text{VO}_2}$ = non-exhaustive double effort intensity determined by heart rate, blood lactate and oxygen uptake measures consumption respectively; VT1 and VT2 = intensities of ventilatory threshold 1 and 2.

a = $p < 0.05$ in relation to the VT2

b = $p < 0.05$ in relation to MLSS

α = due difficult to determine the VT1 of one individual, the “n” was reduced to eighteen for this test

TABLE 2

Table 2.

Mean $\pm$ standard deviation for non-exhaustive double effort test (iNEDE-1) and retest (iNEDE-2) in km.h^{-1} determined by each variable (blood lactate, oxygen uptake and heart rate) and the reliability coefficients from intraclass correlation coefficient (ICC) and coefficient of variation (CV).

	iNEDE-1	iNEDE-2	ICC	CV (%)
NEDE_{LAC}	10.54 $\pm$ 1.45 (n=16)	10.18 $\pm$ 1.48 (n=19)	0.87 ^a	5.1
$\text{NEDE}_{\text{VO}_2}$	10.71 $\pm$ 1.30 (n=13)	10.88 $\pm$ 1.37 (n=17)	0.49 ^a	9.0
NEDE_{HR}	9.79 $\pm$ 1.96 (n=14)	9.83 $\pm$ 1.82 (n=16)	0.66 ^a	11.7

NEDE_{HR} , NEDE_{LAC} and $\text{NEDE}_{\text{VO}_2}$ = non-exhaustive double effort intensity (km.h^{-1}) determined by heart rate, blood lactate and oxygen uptake measures consumption respectively.

a = $p < 0.05$

FIGURES

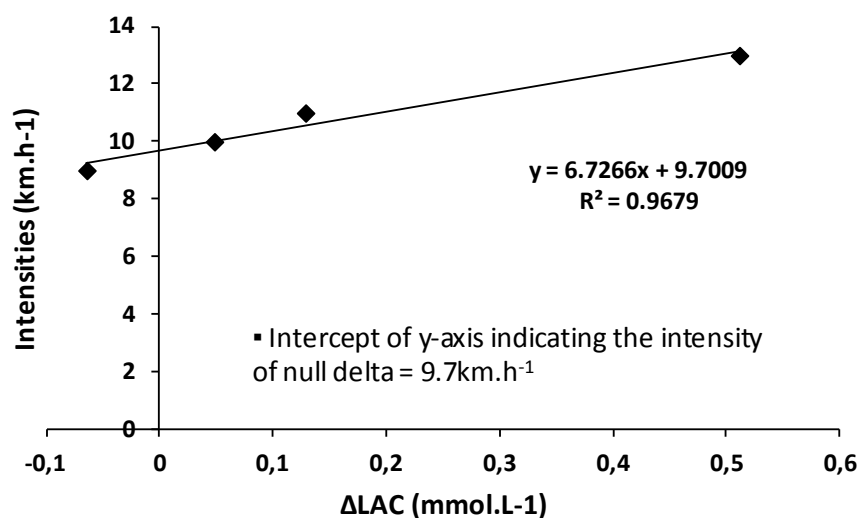


Figure 1. Linear regression of ΔLAC for each intensity plotted on x-axis and y-axis respectively; the null delta represented by the intercept of y-axis indicating the $i\text{NEDE}_{\text{LAC}}$. ΔLAC = value of blood lactate of the second effort minus the first effort; $i\text{NEDE}_{\text{LAC}}$ = intensity predicted by the non-exhaustive double effort test measured by blood lactate.