

Alterações metabólicas induzidas pela restrição energética e pela suplementação com vitamina E em ratos submetidos ao exercício¹

Metabolic changes induced by energy restriction and vitamin E supplementation in exercised rats

Suzana Lima de OLIVEIRA²
Derlange Belizário DINIZ³
Jaime AMAYA-FARFAN⁴

RESUMO

Este estudo investigou os efeitos da restrição energética (em carboidratos) e da suplementação com vitamina E em parâmetros metabólicos associados ao exercício físico. Ratos machos *Wistar*, de onze semanas de idade, após receberem dieta controle, restrita (controle modificada) ou suplementada (controle, adicionada de vitamina E), por cinco meses, foram subdivididos em duas categorias: exercitados e não exercitados. Antes do sacrifício, os ratos do grupo exercitado foram submetidos a exercício em esteira até a exaustão. Determinaram-se glicogênio hepático e muscular, glicemia, insulina plasmática e lactato sanguíneo, e registrou-se o tempo para alcançar a exaustão. A restrição energética aumentou o glicogênio hepático e a resistência ao exercício exaustivo e, quando associada ao exercício, reduziu a glicemia. A suplementação com vitamina E reduziu a resistência à exaustão, quando comparada à restrição energética, mas esta redução não foi significativa em relação à dieta controle. Estes resultados indicam que a restrição energética melhorou o desempenho físico, mas a suplementação com vitamina E não apresentou o mesmo efeito.

Termos de indexação: restrição energética, vitamina E, exercício, glicogênio, desempenho.

¹ Trabalho elaborado a partir da tese de doutorado de S.L. OLIVEIRA, intitulada "Restrição calórica e suplementação com vitamina E no rato submetido ao exercício físico exaustivo". Campinas, 1999. 114p. Bolsa PICD/CAPES, FAPESP, processo 95/6589-6.

² Departamento de Nutrição, Centro de Saúde, Universidade Federal de Alagoas. Cidade Universitária, BR 104 Km 97, Tabuleiro dos Martins, 57072-970, Maceió, AL, Brasil. Correspondência para/Correspondence to: suzaoliveira@ig.com.br

³ Departamento de Nutrição, Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza.

⁴ Departamento de Planejamento Alimentar e Nutrição, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.

ABSTRACT

The effects of energy (carbohydrate) restriction and vitamin E supplementation on some exercise-induced metabolic modifications in rats were studied. Male Wistar, eleven-week old rats were fed control, or restricted amounts of a modified control, or control plus vitamin E diets. After feeding the diets for five months, the animals in each group were divided into exercised and non-exercised categories. Before being killed, the rats of the exercised category were required to run on a treadmill to exhaustion. Hepatic and muscular glycogen, plasma glucose, plasma insulin and blood lactate were determined and the time to reach exhaustion was registered. Energy restriction increased hepatic glycogen and resistance to exhaustive exercise and, associated to exercise, lowered the plasma glucose levels. Vitamin E supplementation decreased the resistance to exhaustion in the exercised animals, when compared to energy restriction, but this reduction was not significant in relation to control diet. These results indicate that energy restriction improved physical performance, but vitamin E supplementation did not present the same effect.

Index terms: energy restriction, vitamin E, exercise, glycogen, performance.

INTRODUÇÃO

O impacto da dieta na nutrição humana e seu papel na qualidade de vida constituem tema de especial interesse de diversas áreas da pesquisa científica. Nesse contexto, a restrição energética vem-se destacando por seu reconhecido efeito sobre a longevidade, ao aumentar o tempo de vida das várias espécies estudadas (Weindruch, 1996). Descrevem-se ainda seus efeitos no Sistema Nervoso Central, na função reprodutora e no sistema imunológico (Masoro *et al.*, 1991), além de alterações metabólicas, tais como redução da glicemia e da insulina circulante (Cartee & Dean, 1994; McDonald, 1997). Desconhece-se o mecanismo para explicar tais benefícios, mas algumas teorias foram propostas, entre elas, aquela que discute o papel antioxidante da restrição energética no prejuízo oxidativo acumulado no decorrer da vida (Masoro *et al.*, 1991; Weindruch, 1996).

Nesse sentido, uma outra alternativa dietética a qual tem sido bastante investigada compreende a suplementação com substâncias como a vitamina E, importante antioxidante lipofílico das membranas celulares. Relatam-se diversos efeitos benéficos desse procedimento, incluindo proteção contra o prejuízo oxidativo em diversos tecidos (Leibovitz *et al.*, 1990; Garrido *et al.*, 1993), inibição da modificação do DNA e da

incidência de câncer (Zhang *et al.*, 1997), em animais, e melhora da utilização de glicose e da resposta hepática à insulina, em humanos (Paolisso *et al.*, 1993).

A influência da dieta em situações de alterada demanda fisiológica, como o exercício físico, similarmente, tem despertado a atenção de pesquisadores (Spriet & Peters, 1998). Nesse aspecto, as conseqüências da suplementação com vitamina E vêm sendo mais exaustivamente investigadas que aquelas da restrição energética, especialmente seu papel antioxidante no prejuízo induzido por aquela atividade física (Witt *et al.*, 1992; Sen *et al.*, 1997). No entanto, poucas pesquisas são encontradas acerca da repercussão de ambos os regimes nas modificações metabólicas induzidas pelo exercício. Portanto, o objetivo do presente trabalho consistiu no estudo dos efeitos da restrição energética e da suplementação com vitamina E em alguns parâmetros relacionados ao exercício físico exaustivo, a saber: estoques hepático e muscular de glicogênio, desempenho, glicemia, insulinemia e lactato sanguíneo.

MATERIAL E MÉTODOS

Sessenta ratos machos *Wistar*, de 21 dias de idade (Centro de Bioterismo, Universidade

Estadual de Campinas), foram mantidos em gaiolas coletivas ($22 \pm 2^\circ\text{C}$; ciclo claro-escuro de 12h), recebendo dieta comercial (Labina, Ralston-Purina do Brasil), com livre acesso, por oito semanas. Após esse período, foram transferidos, ao acaso, para gaiolas individuais, a fim de se iniciar a fase experimental propriamente dita, em que os animais foram distribuídos em três grupos de dieta ($n=20$): grupo *C* (controle), com livre acesso a uma dieta de manutenção (AIN 93-M) (Reeves *et al.*, 1993); grupo *R* (restrito), recebendo uma dieta controle modificada, com restrição de 30% de energia e com redução de 40% nos carboidratos; e grupo *S* (suplementado), mantido sob uma dieta controle, com livre acesso, adicionada de 1425 UI de vitamina E (todo-*rac*- α -tocoferil acetato, 50% de atividade)/ kg de dieta (Tabela 1). Inicialmente, todos os grupos foram submetidos a um período de adaptação de uma semana, com dieta controle.

A dieta restrita foi elaborada de tal forma a garantir, em cota correspondente a 70% da quantidade consumida pelo grupo controle, proporções equivalentes de todos os nutrientes, excluindo-se os carboidratos. Conseqüentemente, através da restrição do consumo de uma dieta modificada a 70% da quantidade ingerida pelo

grupo *C*, o grupo *R* ingeriu 30% menos energia, com uma redução de 40% nos carboidratos. A porção de dieta oferecida ao grupo *R* foi calculada com base no consumo médio diário do grupo *C*. A dieta *S*, por sua vez, forneceu uma quantidade de vitamina E 20 vezes maior que a recomendada para ratos (grupo *C*). A reposição de dieta era efetuada na frequência de três vezes por semana, considerando-se as cotas diárias estabelecidas.

O experimento foi conduzido por 21 semanas, conforme um protocolo aprovado pelo Comitê de Ética institucional.

Procedimento

Anteriormente ao final do período experimental, os animais de cada grupo foram subdivididos, ao acaso, em duas categorias de atividade física ($n=10$): exercitados (*E*) e não exercitados (*NE*). No dia do exercício, após uma noite de jejum, os ratos da categoria *E* foram submetidos a corrida em esteira (inclinação de 15° , velocidade de 27m/min) até a exaustão, em bateria única, sem treinamento anterior. O ponto de exaustão foi determinado pela recusa do animal em se mover, mesmo perante a

Tabela 1. Composição das dietas experimentais, conforme a AIN-93M.

Ingredientes	Dietas (g/ 100g)		
	Controle	Restrita	Suplementada
Caseína (85,0%)	14,00	20,00	14,00
Amido de milho (87,6%)	62,07	54,15	62,07
Sacarose (99,5%)	10,00	7,22	10,00
Óleo de soja	4,00	5,71	4,00
Fibra (celulose)	5,00	5,86	5,00
Mistura mineral AIN-93 M ^a	3,50	5,00	3,50
Mistura vitamínica AIN-93 M ^b	1,00	1,43	1,00
L-cistina	0,18	0,26	0,18
Bitartarato de colina	0,25	0,36	0,25
<i>Tert</i> -butilhidroquinona	0,0008	0,0011	0,0008
Todo- <i>rac</i> - α -tocoferil acetato (50,0% de atividade)	-	-	0,285 ^c
Valor energético	347,71	347,62	347,71

(^a) contém 20,98% de sacarose; (^b) contém 97,47% de sacarose; (^c) suficiente para fornecer uma porção adicional de 1425 UI/kg de dieta (ou um total de 1500 UI/kg).

estimulação elétrica de baixa intensidade, instalada no local inicial da corrida. Retirou-se uma amostra de sangue da cauda dos animais exaustos, para medição do lactato, encaminhando-os em seguida ao sacrifício por deslocamento cervical. Paralelamente, de forma alternada, realizou-se o sacrifício dos animais da categoria *NE*, nas mesmas condições. A fim de se uniformizarem os efeitos do estresse ambiental, animais *NE* permaneceram na sala de exercício, no momento do teste físico. Amostras de fígado e músculo *gastrocnemius* foram coletadas, congeladas em nitrogênio líquido e armazenadas a -80°C , até a execução das análises. O sangue foi coletado por punção cardíaca, em solução de EDTA (ácido etilenodiaminotetracético, solução de 10,0% em 0,9% de NaCl, para uma concentração final de 1,0%), centrifugado a $1540 \times g$, por 15min, e o plasma obtido foi estocado a -80°C .

Análises bioquímicas

As determinações de glicogênio muscular e hepático obedeceram ao procedimento de extração de Sjogreen *et al.* (1938) e ao ensaio colorimétrico de Hassid & Abraham (1957). Como padrão utilizou-se D-glicose anidra (Sigma), e os resultados foram expressos em mg de glicogênio por 100 mg de tecido.

Realizou-se, por radioimunoensaio, a quantificação de insulina no plasma coletado, conforme método de Desbuquois & Aurbach (1971). Os resultados foram expressos em $\mu\text{U}/\text{mL}$ de plasma ($1\text{ng} = 24\mu\text{U}$).

A concentração plasmática de glicose foi medida através da utilização de *kit* específico (Glicose GOD-ANA, Labtest), sendo o resultado expresso em mg/dL de plasma. O lactato das amostras de sangue foi determinado em lactímetro (Acusport, *Boehringer Mannheim*), através da disposição de uma gota da amostra em fita apropriada, e os resultados foram expressos em nmoles/mL de sangue.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) de duas vias, para determinar a significância ($p < 0,05$) das diferenças devidas aos principais efeitos, dieta e exercício, bem como sua interação. Quando F resultou significativo, seguiu-se o teste de classificação de Duncan. Para tais análises, utilizou-se o programa Statistica para Windows, versão 5.0 (StatSoft, Inc.).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No início do experimento, os animais apresentavam médias de peso equivalentes (C: 323 ± 25 ; R: 332 ± 25 ; S: 326 ± 27 g; $p > 0,05$). Após a primeira semana, aqueles submetidos à restrição apresentavam peso significativamente menor do que os das demais dietas ($p < 0,003$), fato verificado em todo o período experimental. Ao final, os ratos restritos exibiram 78% do peso (382 ± 14 g) do grupo controle (489 ± 38 g), enquanto os suplementados mantiveram-se equiparados a esse grupo (493 ± 40 g) ($p < 0,0001$). No período, as médias de ingestão diária de ração dos animais foram de 21 ± 1 , 20 ± 1 e $15 \pm 0,3$ g para os grupos controle, suplementado e restrito, respectivamente.

Os resultados relativos ao tempo de exaustão registrado na esteira indicaram uma diferença significativa entre os diferentes grupos de dieta (Tabela 2). Até alcançarem a exaustão, animais restritos resistiram mais tempo do que aqueles sob dietas controle e suplementada. Por outro lado, a reserva hepática de glicogênio do grupo não exercitado, sob restrição energética, apresentou-se superior, quando comparada aos demais grupos de dieta (Tabela 2). Com o exercício, igualaram-se esses valores. O glicogênio muscular, por sua vez, semelhante para todos os grupos de dieta não exercitados, diminuiu com a atividade física, sendo significativamente menor a redução no caso do grupo sob suplementação com vitamina E.

Tabela 2. Desempenho físico e glicogênio muscular e hepático de animais sob dietas controle, de restrição energética e suplementada com vitamina E.

Grupo	Glicogênio (mg/100 mg tecido)		Ponto de exaustão ³ (min)
	Fígado ¹	Músculo ²	
<i>CNE</i>	0,179 ± 0,02 ^a	0,529 ± 0,046 ^a	
<i>CE</i>	0,076 ± 0,008 ^a	0,250 ± 0,029 ^b	39 ± 6 ^a
<i>RNE</i>	0,678 ± 0,210 ^b	0,536 ± 0,031 ^a	
<i>RE</i>	0,100 ± 0,009 ^a	0,242 ± 0,039 ^b	69 ± 11 ^b
<i>SNE</i>	0,135 ± 0,016 ^a	0,533 ± 0,014 ^a	
<i>SE</i>	0,084 ± 0,011 ^a	0,414 ± 0,047 ^c	18 ± 2 ^a

C: controle; **R:** restrito; **S:** suplementado; **NE:** não exercitado; **E:** exercitado.

Os valores representam a média ± erro-padrão dos grupos.

Letras diferentes sobrescritas nas colunas indicam diferença estatística significativa entre os grupos: ¹($p < 0,013$), ²($p < 0,05$), ³($p < 0,0025$).

Paralelamente à maior resistência à exaustão, observada quando animais sob restrição energética foram submetidos ao exercício em esteira, encontrou-se uma maior reserva hepática de glicogênio, promovida por aquele regime dietético, em animais não exercitados. Desse modo, embora o glicogênio muscular tenha um papel crítico como determinante do desempenho em exercício de longa duração (Hargreaves, 1991), o glicogênio hepático parece ter representado uma importante influência naquele resultado. Em realidade, o fígado desempenha uma destacada função durante o exercício, satisfazendo as necessidades aumentadas do músculo e mantendo a glicemia (Spriet & Peters, 1998).

Uma interessante questão que se apresenta consiste na razão pela qual os animais restritos mostraram uma maior reserva hepática de glicogênio. O modelo de restrição ora utilizado caracterizou-se justamente por uma redução energética em termos de carboidratos, modificando as proporções dos três componentes energéticos, carboidratos, proteínas e lipídios. Supostamente, o organismo pode ter desenvolvido uma “economia” de glicogênio, desviando, por exemplo, o metabolismo energético para vias neoglicogênicas. De qualquer modo, há pouca informação relativa às repercussões metabólicas dos diferentes modelos de restrição energética os quais têm sido empregados.

Ainda em relação à dieta restrita, dois outros pontos merecem ponderação. O primeiro

deles é o papel do aporte protéico na atividade física, pois relata-se a associação entre dietas hiperprotéicas e melhor desempenho físico (Lemon, 1997). Embora, no modelo de restrição presentemente estabelecido, o aumento relativo do teor protéico tenha tido o propósito de compensar a redução do consumo alimentar, promovendo, desse modo, uma equivalência, em termos absolutos, entre as diferentes dietas, os animais restritos, por seu peso reduzido, terminaram por receber, por quilo de peso, uma quantidade maior de proteína. Assim, não se pode descartar a possibilidade de associação entre esse “aparente efeito hiperprotéico” e o melhor desempenho na corrida, exibido pelo grupo restrito. O segundo ponto a ser ponderado refere-se à influência do peso dos animais. Conseqüente ao próprio modelo de dieta, o menor peso de animais restritos, 100g a menos que os demais grupos, pode ter contribuído para o melhor desempenho físico exibido pelo grupo, ou pode até mesmo tê-lo determinado.

O único efeito significativo da suplementação com vitamina E produziu-se no músculo. Os animais suplementados apresentaram menor redução na reserva de glicogênio muscular em relação aos restritos. Paralelamente, o trabalho físico foi desenvolvido em menor tempo, o que poderia justificar um menor dispêndio dessa substância pelo músculo. Nesse sentido, a literatura guarda algumas controvérsias. Encontram-se tanto relatos de diminuição do

tempo para alcançar a exaustão em ratos com deficiência em vitamina E, como de nenhuma alteração nesse tempo em animais com a mesma carência (Goldfarb, 1993). Em contexto diverso, em animais e humanos recebendo suplementação com a vitamina, não se detectou alteração do desempenho físico, quando comparados aos indivíduos controle (Witt *et al.*, 1992), em contraposição ao melhor desempenho no exercício exaustivo observado em ratos, após injeção intramuscular de vitamina E (Novelli *et al.*, 1990). Merecem destaque, entretanto, as diferentes condições de suplementação empregadas pelos diversos trabalhos, como dose, tempo e via de administração da vitamina, dificultando conclusões definitivas acerca do tema.

A glicemia de animais restritos exercitados mostrou-se significativamente inferior à dos demais grupos (Tabela 3). Como os animais não exercitados apresentaram iguais valores para esse parâmetro, pode-se afirmar que a glicemia não sofreu qualquer influência do tipo de dieta. Tal parâmetro também não foi alterado pelo exercício, nos animais controle e suplementados. Quanto aos dados de insulina e lactato (Tabela 3), em ambos os casos, apenas o exercício influenciou nos resultados, apresentando o grupo exercitado menores valores de insulina ($26 \pm 3 \mu\text{U/mL}$ de plasma) e maiores de lactato ($4,8 \pm 2,0 \text{ nmoles/mL}$ de sangue) do que aqueles exibidos pelos animais em repouso ($35,9 \pm 2,2 \mu\text{U/mL}$ de plasma e $1,8 \pm 0,5 \text{ nmoles/mL}$ de lactato no sangue).

A redução da glicemia, outro efeito atribuído à restrição energética (Masoro *et al.*, 1991; Cartee & Dean, 1994), tem sido objeto de algumas investigações. No presente estudo, embora o grupo restrito não exercitado tenha apresentado menor glicemia que os demais grupos de dieta nessa condição, a diferença não foi significativa. Silva (1998), em ratos de 2 e 14 meses, não registrou, de modo similar, alteração na glicemia após 28 dias de restrição dietética global. Por outro lado, no exercício severo, a produção hepática de glicose pode ser superada pela sua utilização periférica, acarretando hipoglicemia (Hargreaves, 1991). Tal condição, no presente caso, foi observada no grupo restrito submetido ao exercício exaustivo. Torna-se conveniente lembrar que, em primeira instância, esses animais executaram trabalho físico de maior magnitude, pois, na esteira, correram por um tempo notavelmente superior aos demais grupos.

Similarmente aos efeitos na glicemia, a restrição energética tem sido associada a uma redução na concentração plasmática de insulina. Os resultados ora apresentados, entretanto, não mostraram tal efeito em animais de 8 meses de idade. Nesse sentido, Silva (1998), empregando restrição energética global, verificou uma redução nesse parâmetro em ratos de 14 meses, mas não naqueles de dois meses de idade, após 28 dias de dieta restrita.

A repercussão da restrição energética, no que diz respeito à sensibilidade dos tecidos à ação

Tabela 3. Glicose e insulina plasmáticas e lactato sanguíneo de animais exercitados e não exercitados, sob dietas controle, de restrição energética e suplementada com vitamina E.

Grupo	Glicose (mg/dL plasma) ¹	Insulina ($\mu\text{U/mL}$ plasma) ²	Lactato (nmoles/mL sangue) ²
CNE	$71,866 \pm 5,120^a$	$35,6 \pm 4,3 A^a$	$1,40 \pm 0,22 A^a$
CE	$75,423 \pm 8,966^a$	$22,4 \pm 5,3 A^b$	$4,42 \pm 0,57 A^b$
RNE	$66,337 \pm 3,873^a$	$28,5 \pm 5,0 A^a$	$2,00 \pm 0,20 A^a$
RE	$43,000 \pm 3,451^b$	$37,8 \pm 4,1 A^b$	$4,12 \pm 0,25 A^b$
SNE	$73,380 \pm 4,149^a$	$34,1 \pm 2,6 A^a$	$1,78 \pm 0,29 A^a$
SE	$78,460 \pm 2,547^a$	$26,6 \pm 3,8 A^b$	$5,80 \pm 0,80 A^b$

C: controle; R: restrito; S: suplementado; NE: não exercitado; E: exercitado.

Os valores representam as médias \pm erro-padrão dos grupos.

(¹) Letras diferentes sobrescritas na coluna indicam diferença estatística significativa entre os grupos ($p < 0,05$).

(²) Letras diferentes sobrescritas à letra "A" na coluna indicam diferença estatística significativa quanto à atividade física ($p < 0,05$).

da insulina, merece ser mencionada, embora não tenha sido analisada no presente estudo. Sua melhora como consequência daquele regime encontra-se relatada em algumas pesquisas, em várias espécies de animais (Kemnitz *et al.*, 1994; Colman *et al.*, 1995). Silva (1998), por exemplo, encontrou melhor sensibilidade a esse hormônio em ratos de dois meses, submetidos à restrição energética, sem alteração da insulina plasmática. No presente caso, uma potencial melhora da ação insulínica, por seu efeito na síntese do glicogênio, poderia estar associada à maior reserva hepática encontrada no grupo restrito.

CONCLUSÃO

Diante dos resultados apresentados, verifica-se, portanto, que a dieta com restrição energética melhorou o desempenho físico dos animais submetidos à exaustão, quando comparada às dietas controle e suplementada com vitamina E. A promoção do aumento da reserva hepática de glicogênio e a redução do peso parecem estar associadas a esse efeito. O grupo suplementado com vitamina E apresentou uma tendência à menor resistência à exaustão, embora seu tempo não tenha sido diferente estatisticamente daquele do grupo controle. Por outro lado, animais restritos não apresentaram redução da glicemia e insulinemia, efeito benéfico frequentemente associado a esse regime dietético. Entretanto, nos diversos estudos realizados, são utilizados diferentes modelos de restrição energética, cujas implicações metabólicas não se encontram claramente definidas, constituindo-se um fator limitante na comparação de resultados e na elaboração de considerações definitivas.

AGRADECIMENTOS

À Profa. Dra. Denise Vaz de Macedo e colaboradores, do Departamento de Bioquímica, e ao Prof. Dr. Everardo Magalhães Carneiro e colaboradores, do Departamento de Fisiologia, do Instituto de Biologia, da Universidade Estadual de

Campinas (Unicamp), nosso reconhecimento por suas valiosas contribuições.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CARTEE, G.D., DEAN, D.J. Glucose transport with brief dietary restriction: heterogeneous responses in muscles. *American Journal of Physiology*, Bethesda, v.266, n.6, p.E946-E952, 1994.
- COLMAN, E., KATZEL, L.I., ROGUS, E., COON, P., MULLER, D., GOLDBERG, A.P. Weight loss reduces abdominal fat and improves insulin action in middle-aged and older men with impaired glucose tolerance. *Metabolism*, Baltimore, v.44, n.11, p.1502-1508, 1995.
- DESBUQUOIS, B., AURBACH, G.D. Use of polyethylene glycol to separate free and antibody-bound peptide hormone in radioimmunoassays. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, Philadelphia, v.33, n.5, p.732-738, 1971.
- GARRIDO, A., GÁRATE, M., CAMPOS, R., VILLA, A., NIETO, S., VALENZUELA, A. Increased susceptibility of cellular membranes to the induction of oxidative stress after ingestion of high doses of fish oil: effect of aging and protective action of dl- α -tocopherol supplementation. *Journal of Nutritional Biochemistry*, Chapel Hill, v.4, n.2, p.118-122, 1993.
- GOLDFARB, A.H. Antioxidants: role of supplementation to prevent exercise-induced oxidative stress. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, Indianapolis, v.25, n.2, p.232-236, 1993.
- HARGREAVES, M. Carbohydrates and exercise. *Journal of Sports Sciences*, London, v.9, p.17-28, 1991.
- HASSID, W.Z., ABRAHAM, S. Chemical procedures for analysis of polysaccharides. *Methods in Enzymology*, New York, v.3, p.34-36, 1957.
- KEMNITZ, J.W., ROECKER, E.B., WEINDRUCH, R., ELSON, D.F., BAUM, S.T., BERGMAN, R.N. Dietary restriction increases insulin sensitivity and lowers blood glucose in rhesus monkeys. *American Journal of Physiology*, Bethesda, v.266, n.4 Pt1, p.E540-E547, 1994.

- LEIBOVITZ, B.E., HU, M.L., TAPPEL, A.L. Lipid peroxidation in rat tissue slices: effect of dietary vitamin E, corn oil-lard and menhaden oil. *Lipids*, Champaign, v.25, n.3, p.125-129, 1990.
- LEMON, P.W.R. Dietary protein requirements in athletes. *Journal of Nutritional Biochemistry*, Chapel Hill, v.8, n.2, p.52-60, 1997.
- MASORO, E.J., SHIMOKAWA, I., YU, B.P. Retardation of the aging processes in rats by food restriction. *Annals of the New York Academy of Sciences*, New York, v.621, p.337-352, 1991.
- MCDONALD, R.B. Some considerations for the development of diets for mature rodents used in long-term investigations. *Journal of Nutrition*, Bethesda, v.127, n.5, p.847S-850S, 1997.
- NOVELLI, G.P., BRACCIOTTI, G., FALSINI, S. Spin-trappers and vitamin E prolong endurance to muscle fatigue in mice. *Free Radical Biology & Medicine*, Newton, v.8, n.1, p.9-13, 1990.
- PAOLISSO, G., D'AMORE, A., GIUGLIANO, D., CERIELLO, A., VARRICCHIO, M., D'ONOFRIO, F. Pharmacologic doses of vitamin E improve insulin action in healthy subjects and non-insulin-dependent diabetic patients. *American Journal of Clinical Nutrition*, Bethesda, v.57, n.5, p.650-656, 1993.
- REEVES, P.G., NIELSEN, F.H., FAHEY Jr, G.C. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition *Ad Hoc* Writing Committee on the reformulation of the AIN-76 rodent diet. *Journal of Nutrition*, Bethesda, v.123, n.11, p.1939-1951, 1993.
- SEN, C.K., ATALAY, M., AGREN, J., LAAKSONEN, D.E., ROY, S., HANNINEN, O. Fish oil and vitamin E supplementation in oxidative stress at rest and after physical exercise. *Journal of Applied Physiology*, Bethesda, v.83, n.1, p.189-195, 1997.
- SILVA, M.S. Efeito da restrição dietética nas etapas iniciais da ação insulínica em ratos *Wistar* machos com 2 e 14 meses de idade. Campinas, 1998. 80p. Tese (Doutorado em Ciência da Nutrição) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, 1998.
- SJÖRGREEN, N.B., NORDENSKJOLD, T., HOLMGREN, H., WOLLERSTROM, J. Bertrag zur kenntnis des le berrhythmik. *Pflügers Arch Fur Die Gesamte Physiologie des Menschen und der Tiere*, Berlin, v.240, p.247, 1938.
- SPRIET, L.L., PETERS, S.J. Influence of diet on the metabolic responses to exercise. *Proceedings of the Nutrition Society*, London, v.57, n.1, p.25-33, 1998.
- WEINDRUCH, R. Caloric restriction and aging. *Scientific American*, New York, v.274, n.1, p.32-38, 1996.
- WITT, E.C., REZNICK, A.Z., VIGUIE, C.A., STARKE-REED, P., PACKER, L. Exercise, oxidative damage and effects of antioxidant manipulation. *Journal of Nutrition*, Bethesda, v.122, n.3, p.766-773, 1992. Supplement 1.
- ZHANG, D., OKADA, S., YU, Y., ZHENG, P., YAMAGUCHI, R., KASAI, H. Vitamin E Inhibits Apoptosis, DNA Modification, and Cancer Incidence Induced by Iron-mediated Peroxidation in Wistar Rat Kidney. *Cancer Research*, Baltimore, v.57, n.12, p.2410-2414, 1997.

Recebido para publicação em 13 de março e aceito em 2 de outubro de 2001.