UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO
DEPARTAMENTO DE CLÍNICA MÉDICA

GABRIEL SILVEIRA FRANCO

**Efeito da suplementação de beta-alanina na expressão gênica de seus
transportadores e no desempenho de corredores fundistas**

Ribeirão Preto
2020

GABRIEL SILVEIRA FRANCO

**Efeito da suplementação de beta-alanina na expressão gênica de seus
transportadores e no desempenho de corredores fundistas**

Versão Original

Tese apresentada ao programa de pós-graduação da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências Médicas.

Área de Concentração: Clínica Médica

Opção: Investigação Biomédica

Orientadora: Profa. Dra. Carla Barbosa Nonino

Ribeirão Preto

2020

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

FICHA CATALOGRÁFICA

Franco, Gabriel Silveira

Efeito da suplementação de beta alanina na expressão gênica de seus transportadores e no desempenho de corredores fundistas, 2020.

82 p. : il. ; 30 cm

Tese de Doutorado, apresentada ao Programa de Pós-Graduação da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/USP. Área de concentração: Investigação Biomédica.

Orientadora: Nonino, Carla Barbosa.

1. Beta-alanina 2. Corrida 3. Desempenho atlético 4. Expressão gênica 5. Suplementos nutricionais.

FRANCO, Gabriel Silveira

Efeito da suplementação de beta-alanina na expressão gênica de seus transportadores e no desempenho de corredores fundistas

Tese apresentada ao programa de pós-graduação da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências Médicas.

Área de Concentração: Clínica Médica

Aprovado em:

Banca Examinadora

Prof.Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof.Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof.Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

DEDICATÓRIA

Seria hipocrisia não homenagear este trabalho a minha família... Sendo assim, dedico esta tese ao meu filho Henrique, por me ensinar diariamente o sentido real da palavra amor, a minha esposa Patricia por toda compreensão, felicidade e companheirismo durante estes anos, aos meus pais, Angela e Eduardo, pelos diversos ensinamentos cedidos ao longo da minha vida e ao meu irmão, Matheus, pelo exemplo de pessoa por quem sempre me espelhei desde quando era criança.

AGRADECIMENTOS

Não tenham dúvida alguma de que escrever este tópico foi o mais trabalhoso para mim e, por isto, foi a última parte do trabalho que optei em redigir. Afinal, como não ter receio de se esquecer de alguém que colaborou, independentemente de como ou quando, para a realização desta pesquisa. De qualquer forma, já peço desculpas antecipadamente caso tenha me esquecido de alguém.

Para escrever uma tese, em que geralmente é pautada pela solidão e pelas incertezas, torna-se necessário ter um alicerce ao seu redor que te dê força e te motive a prosseguir, mesmo sabendo das inúmeras dificuldades. Contudo, como tudo na vida tem um começo, meio e fim, espero que tenha terminado com êxito este caminho que trilhava enquanto ainda era estudante.

Sendo assim, nada mais justo do que pontuar meus sinceros agradecimentos...

A Deus, em primeiro lugar, pela oportunidade e saúde concedida para que eu tivesse força suficiente de terminar o que comecei lá atrás. Tenho total consciência que o seu zelo me fortaleceu durante os períodos mais árduos.

A minha ilustríssima orientadora Profa. Dra. Carla Barbosa Nonino que acreditou em meu potencial desde meados de 2011, quando ainda estava para ingressar no mestrado, e com toda serenidade e competência do mundo, me ensinou, ajudou e abraçou a ideia de prosseguirmos juntos no doutorado. Serei grato eternamente a você.

A todos integrantes da família LEN (Bruno, Cris, Flávia, Marcela, Natty, Heitor, Carol Nicolleti, Carol Welendorf, Lú, Letícia e Luzânia) pelas vivências compartilhadas e ajudas prestadas ao longo desta caminhada. Saibam que todos os momentos foram especiais e estarei com o braço estendido sempre que precisarem.

A todos que me ajudaram na coleta de dados: Camila, Gaby, Michelle, Vinícius, Aleff, Rodrigo e em especial a Aninha por todo companheirismo e carinho que tem por mim desde a época que éramos graduandos em Nutrição. Confesso que, sem vocês, teria demorado meses (para não dizer anos) a mais, caso realmente conseguisse terminar.

Ao meu eterno amigo Robertinho por todo auxílio prestado, pela parceria e cumplicidade de décadas. Uma amizade verdadeira, que por sinal está cada vez

mais raro neste mundo repleto de mentiras e ilusões, não pode ser descrita, mas sim demonstrada.

Ao Prof. Dr. Marcelo Papoti que, além de auxiliar com seus conselhos primordiais em minha qualificação, ofereceu caridosamente, junto de seus exímios alunos e funcionários, o seu laboratório e infraestrutura para que fosse possível realizar todos os testes cardiorrespiratórios e análises das variáveis bioquímicas.

Aos Profs. Dr Júlio Sérgio Marchini e Dr. Enrico Puggina por todas as considerações no momento da qualificação. Tenham certeza de que tentei absorver ao máximo seus respectivos ensinamentos.

Aos atletas que aceitaram, sem hesitar, em participar da pesquisa e sempre estiveram solícitos a ajudarem naquilo que fosse preciso. Em especial ao treinador Rangel por toda assistência e prestatividade durante o período de coleta.

Por fim, mas não menos importante, ao apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

"Não é sobre chegar no topo do mundo e saber que venceu. É sobre escalar e sentir que o caminho te fortaleceu. É sobre ser abrigo e também ter morada em outros corações. E assim ter amigos contigo em todas as situações..."

(Ana Vilela)

Resumo

RESUMO

FRANCO, G. S. **Efeito da suplementação de beta-alanina na expressão gênica de seus transportadores e no desempenho de corredores fundistas**. 2020. 82f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2020.

Introdução: A suplementação com Beta-alanina vem sendo utilizada por atletas de diversas modalidades esportivas principalmente pelo fato de aumentar a concentração intramuscular de carnosina e, desta forma, auxiliar no tamponamento do pH. **Objetivos:** Avaliar o efeito da suplementação de beta-alanina na expressão gênica de seus transportadores *TauT* e *PAT1* e no desempenho de corredores fundistas em corrida de 5km contra o relógio. **Métodos:** Participaram do estudo 16 atletas fundistas do sexo masculino com tempo de prova nos 5km igual ou menor a 20 minutos de duração. Os indivíduos foram submetidos ao teste de esforço máximo em esteira (para mensurar o Vo_2Max) e distribuídos aleatoriamente, com design duplo cego, em dois grupos: Grupo Placebo (PLA): receberam amido (6 cápsulas/dia) durante 4 semanas; Grupo Beta Alanina (BA): receberam beta alanina (4,8g/dia fracionado em 6 cápsulas) durante 4 semanas. Todos os indivíduos foram submetidos a avaliação antropométrica (peso e estatura) e de composição corporal (protocolo de 7 dobras cutâneas). Eles realizaram um teste de 5km em pista de atletismo nos momentos pré (Teste 1) e pós suplementação (Teste 2). Durante o período de intervenção, eles deveriam anotar todos os treinos realizados para que fosse possível mensurar as variáveis do treinamento (carga, monotonia e tensão) neste intervalo. Coletou-se sangue capilar do lóbulo da orelha para análise de lactato e glicemia nos tempos antes (T_0), 1 (T_1), 3 (T_3), 5 (T_5) e 7 (T_7) minutos após o término dos testes e sangue venoso no tempo T_0 para análise da expressão gênica dos genes *TauT* e *PAT1*. A análise da ingestão alimentar (recordatório 24h) foi realizada antes de cada teste. Os dados estão expressos em média e desvio padrão e para análise estatística realizou-se um teste de normalidade (Shapiro-Wilk), testes t (pareado e independente) e análise de variância (ANOVA) de medidas repetidas. O nível de significância adotado foi de $p < 0,05$. **Resultados:** As características iniciais foram semelhantes entre os grupos, com exceção da porcentagem de gordura corporal que foi maior no grupo BA. Após o período de suplementação o *fold change* do gene *PAT1* foi maior no grupo BA comparado ao PLA, sem diferença para o *TauT*. Não houve diferenças estatísticas nos tempos dos Testes entre os grupos PLA (1128 e 1123s) e BA (1107 e 1093s), porém, observou-se uma melhora de 5,3 e 13,6s respectivamente. Houve aumento de lactato e da glicemia ao comparar o T_0 com os demais tempos em ambos os grupos. Não foram observadas mudanças na ingestão alimentar e raras diferenças entre as variáveis do treinamento foram constatadas entre os grupos. **Conclusão:** A suplementação com BA durante 4 semanas aumentou a expressão do gene *PAT1* mas não resultou em melhora significativa no desempenho em testes de 5 km, apesar de alguns indivíduos terem se beneficiado e terem tido um delta superior do que o grupo PLA ao comparar os dois momentos.

Palavras-chave: Beta-alanina. Corrida. Desempenho atlético. Expressão gênica. Suplementos nutricionais.

Abstract

ABSTRACT

FRANCO, G. S. **Effect of beta-alanine supplementation on the gene expression of its transporters and the performance of long distance runners.** 2020. 82f. Thesis (Doctorate's degree) – Faculty of Medicine of Ribeirão Preto, University of São Paulo, Ribeirão Preto, 2020.

Introduction: Beta-alanine supplementation has been used by athletes of various sports, mainly because it increases the intramuscular concentration of carnosine and, thus, helps in pH buffering. **Objectives:** To evaluate the effect of beta-alanine supplementation on the gene expression of their *TauT* and *PAT1* transporters and on the performance of long distance runners in a 5km race against the clock. **Methods:** Sixteen male runners participated in the study with a 5 km race time of 20 minutes or less. The individuals were submitted to the maximum effort test on a treadmill (to measure Vo2Max) and randomly distributed, with double blind design, in two groups: Placebo Group (PLA): received starch (6 capsules/day) for 4 weeks; Beta Alanine Group (BA): received beta alanine (4.8g/day divided into 6 capsules) for 4 weeks. All individuals were submitted to anthropometric assessment (weight and height) and body composition (7 skinfold protocol). They performed a 5km time trial test on athletics track in the pre (Test 1) and post supplementation (Test 2) moments. During the intervention period, they should write down all the training performed so that it was possible to measure the training variables (load, monotony and strain) in this interval. Capillary blood was collected from the earlobe for analysis of lactate and blood glucose in the times before (T₀), 1 (T₁), 3 (T₃), 5 (T₅) and 7 (T₇) minutes after the end of the tests and venous blood at time T₀ to analyze the gene expression of the *TauT* and *PAT1* genes. The analysis of food intake (24h recall) was performed before each test. Data are expressed as mean and standard deviation and for statistical analysis a normality test (Shapiro-Wilk), t tests (paired and independent) and analysis of variance (ANOVA) of repeated measures were performed. The level of significance adopted was p < 0.05. **Results:** The initial characteristics were similar between the groups, except for the percentage of body fat that was higher in the BA group. After the supplementation period, the fold change of the *PAT1* gene was greater in the BA group compared to the PLA, with no difference for the *TauT*. There were no statistical differences in the test times between the PLA (1128 and 1123s) and BA (1107 and 1093s) groups, however, an improvement of 5.3 and 13.6s was observed, respectively. There was an increase in lactate and blood glucose when comparing T₀ with the other times in both groups. There were no changes in food intake and rare differences between training variables were found between groups. **Conclusion:** Supplementation with BA for 4 weeks increased *PAT1* gene expression but did not result in significant improvement in 5km test performance, although some individuals benefited and had a higher delta than the PLA group when comparing two moments.

Keywords: Beta-alanine. Running. Athletic performance. Gene expression. Dietary supplements.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Tabela de percepção subjetiva de esforço de 10 níveis. -----	23
Figura 2 - Delineamento experimental do estudo.-----	33
Figura 3 - Sondas de hidrólise para os genes avaliados no presente estudo.-----	38
Figura 4 - Sondas de hidrólise para os genes de referência selecionados para o presente estudo. -----	38
Figura 5 - Desempenho de corredores fundistas em testes físicos de 5 km e valor do delta dos grupos placebo e beta-alanina. -----	42
Figura 6 - Desempenho de corredores fundistas em testes físicos fragmentado por cada km antes e após protocolo de suplementação.-----	43
Figura 7 - Expressão relativa dos genes <i>TauT</i> e <i>PAT1</i> em corredores fundistas antes do protocolo de suplementação.-----	46
Figura 8 - Variação da expressão relativa (<i>fold change</i>) dos genes <i>TauT</i> e <i>PAT1</i> em corredores fundistas após protocolo de suplementação. -----	46
Figura 9 - Correlação entre o percentual de gordura corporal e o desempenho nos testes físicos para o grupo Beta-alanina.-----	47
Figura 10 - Correlação entre o VO ₂ Max e o desempenho nos testes físicos para o grupo Placebo.-----	47
Figura 11 - Correlação entre o delta dos testes e variação da expressão do gene <i>TauT</i> para os grupos Placebo (A) e Beta-alanina (B). -----	47
Figura 12 - Correlação entre o delta dos testes e variação da expressão do gene <i>PAT1</i> para os grupos Placebo (A) e Beta-alanina (B).-----	48
Figura 13 - Correlação entre a variação da expressão do gene <i>TauT</i> com o gene <i>PAT1</i> para os grupos Placebo (A) e Beta-alanina (B).-----	49

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Características fisiológicas, antropométricas e da composição corporal dos corredores fundistas. -----	41
Tabela 2 - Controle semanal da carga de treino, monotonia e tensão correspondentes as sessões de treino realizadas pelos corredores durante o protocolo de suplementação. -----	43
Tabela 3 - Variação da glicemia e do lactato antes (Teste 1) e após (Teste 2) o protocolo de suplementação de corredores fundistas.-----	44
Tabela 4 - Consumo alimentar das 24 horas antecedentes aos testes físicos realizados por corredores fundistas.-----	45
Tabela 5 - Consumo alimentar das 2 horas antecedentes aos testes físicos realizados por corredores fundistas.-----	45
Tabela 6 - Correlação entre a expressão dos genes <i>TauT</i> e <i>PAT1</i> e das variáveis do treinamento com o desempenho de corredores fundistas em teste físico de 5 km após o protocolo de suplementação. -----	48

LISTA DE ABREVIATURAS

ANOVA	Análise de Variância
ATP	Adenosina Trifosfato
BA	Beta-alanina
cDNA	DNA complementar
CHO	Carboidrato
Ct	Ciclo de Quantificação
Delta	Diferença de Tempo do Segundo para o Primeiro Teste Físico
EEFERP	Escola de Educação Física e Esporte de Ribeirão Preto
EM	Economia de Movimento
HCFMRP	Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto
HIIT	Treinamento Intervalado de Alta Intensidade
IAAF	International Association of Athletics Federations
LAC	Lactato
L _{An}	Limiar Anaeróbio
LIP	Lipídio
MCTs	Transportadores de Monocarboxilatos
MIG	Massa Isenta de Gordura
NaF	Fluoreto de Sódio
PCr	Fosfocreatina
PLA	Placebo
PSE	Percepção Subjetiva de Esforço
PTN	Proteína
R24h	Recordatório de 24 horas
TEFD	Testes de Esforço Cardiopulmonar
U.A.	Unidades Arbitrárias
VCT	Valor Calórico Total
VER	Teste de Verificação
VO ₂ Max	Consumo Máximo de Oxigênio
%GC	Porcentagem de Gordura Corporal

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	17
1.1 Corrida	18
1.2 Aspectos Fisiológicos na Corrida de 5000m	19
1.2.1 Consumo Máximo de Oxigênio	19
1.2.2 Limiar Anaeróbio	20
1.3 Monitoramento do Treinamento Físico	22
1.4 Suplementos Alimentares	23
1.4.1 Suplementação com Beta-alanina	24
1.4.2 Transportadores de Beta-alanina	27
2. OBJETIVOS	29
2.1 Objetivo Geral	30
2.2 Objetivos Específicos	30
3. CASUÍSTICA E MÉTODOS	31
3.1 Casuística	32
3.2 Critérios de Inclusão	32
3.3 Critérios de Exclusão	32
3.4 Delineamento do Estudo	32
3.5 Antropometria e Composição Corporal	33
3.6 Avaliação Cardiorrespiratória	34
3.7 Protocolo de Suplementação	35
3.8 Testes Físicos	35
3.9 Variáveis do Treinamento	36
3.10 Variáveis Bioquímicas	36
3.11 Avaliação do Consumo Alimentar	36
3.12 Expressão Gênica	37

3.12.1 Extração do RNA.....	37
3.12.2 Transcrição Reversa.....	37
3.12.3 Análise da Expressão Gênica – PCR em tempo real (RT-qPCR).....	37
3.12.4 Controle Endógeno.....	38
3.13 Análise Estatística.....	38
4. RESULTADOS.....	40
5. DISCUSSÃO	50
6. CONCLUSÃO	60
REFERÊNCIAS.....	62
APÊNDICE A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.....	75
APÊNDICE B – Autorização do Laboratório da EEFERP	78
APÊNDICE C - Monitoramento do Treinamento Físico.....	79
ANEXO A - Parecer do Comitê de Ética	82

1. Introdução

1.1 Corrida

Antes de definir o termo corrida, torna-se necessário salientar que tal modalidade se enquadra dentro do Atletismo, assim como a marcha atlética, saltos, arremessos, lançamentos e provas combinadas (MATTHIESEN, 2017).

Segundo a *International Association of Athletics Federations* (IAAF), as provas de corrida do Atletismo são subdivididas quanto as distâncias percorridas pelos atletas. Existem provas de pista: rasas ou de velocidade (100, 200 e 400m), meio fundo (800 e 1.500m) e fundo ou resistência (5.000 e 10.000m). Além disso, existem as provas de rua: meia maratona (21.097,5m) e a maratona (42.195m).

Em uma entrevista qualquer, o etíope bicampeão olímpico Haile Gebrselassie proferiu a seguinte frase “sem corrida não há vida” que, atualmente, pode ser compartilhada por milhões de pessoas mundo afora amantes desta modalidade esportiva (PULEO; MILROY, 2010). Desta forma, torna-se evidente o crescimento tanto no número de corridas, como nos praticantes, visto que a corrida entre os adultos é uma das atividades físicas mais realizadas no universo e principalmente na sociedade ocidental, onde muitas cidades vêm realizando seus próprios eventos de corrida de rua (WORP et al., 2015).

O número de participantes na maratona de New York vem aumentando abruptamente nas últimas cinco décadas, totalizando quase 1,2 milhões de corredores neste período (VITTI et al., 2019). No Brasil, tais afirmações também podem ser confirmadas. A ascensão mais acentuada no número de provas se deu no início da década de 2000 e segundo a Federação Paulista de Atletismo, no ano de 2017 foram realizadas no estado de São Paulo 435 eventos com 922.870 participantes.

Provavelmente o correr seja a forma mais natural de exercício, caracterizado por uma forma de socialização que combina prazer com promoção da saúde, quando realizado de forma adequada (PULEO; MILROY, 2010). Além disso, a corrida de rua é um esporte de baixo custo, onde basicamente são necessários um calção e um par de tênis, e de fácil adaptação para todas as classes sociais, o que a torna mais popular (OLIVEIRA et al., 2012).

Assim como qualquer modalidade esportiva de forma geral, a corrida demanda uma atenção em especial no quesito alimentação, objetivando prevenir lesões e/ou a recuperação muscular (CLOSE et al., 2019). Em virtude de ser uma

prática esportiva extenuante, a nutrição individualizada e a suplementação, caso necessária, auxiliam diretamente o desempenho físico e/ou as correções de possíveis deficiências nutricionais (CAMPOS-FERRAZ, 2014).

1.2 Aspectos Fisiológicos na Corrida de 5000m

Algo bastante esclarecido na literatura é o fato de que quanto maior a distância (duração) da prova, maior a contribuição do metabolismo aeróbio para fornecimento energético (DENADAI; ORTIZ; MELLO, 2004). Por outro lado, em corridas de 800 a 5.000m, pode-se dizer que a via anaeróbia para a produção de energia se torna uma grande aliada ao desempenho físico dos atletas (SOUZA et al., 2011).

Indivíduos que praticam provas de 5.000m obedecem, via de regra, uma estratégia caracterizada pelo início (primeiros 400m) e final (últimos 400m) mais velozes do que o meio da corrida (400 a 4.600m), com intuito de otimizar o uso das reservas energéticas (SILVA et al., 2017). Segundo a lista de todos os recordes mundiais disponibilizado pela IAAF, a melhor marca desta prova na categoria masculina (12 minutos e 37,35 segundos) foi obtida pelo etíope Kenenisa Bekele em 2004, na Holanda.

Um corredor de provas de fundo deve se atentar mais especificamente ao consumo máximo de oxigênio (VO_{2Max}), ao limiar anaeróbio (L_{An}) e a economia de movimento (EM) (DANIELS, 2013). Atletas com tais parâmetros fisiológicos mais aguçados são mais propensos a suportarem uma velocidade de prova mais alta durante as competições (TOMAZINI et al., 2015).

1.2.1 Consumo Máximo de Oxigênio

O VO_{2Max} , melhor representante da potência aeróbia, pode ser definido como a mais alta captação de oxigênio alcançada por um indivíduo, respirando ar atmosférico ao nível do mar (HAWKINS et al., 2007). Ele é um importante indicativo de como uma pessoa consegue se manter em atividade intensa por mais de 4 minutos (MCARDLE; KATCH; KATCH, 2016).

Atualmente, diversos protocolos que variam quanto a duração, velocidade e inclinação, são realizados em esteira para determinar o valor desta variável

cardiorrespiratória em corredores (SPERLICH et al., 2015). Sabe-se que fatores genéticos, ambientais e o próprio treinamento físico influenciam no VO₂Max dos indivíduos (LORENZ et al., 2013).

Ao comparar a potência aeróbia de atletas de diversos níveis de condicionamento físico, observa-se uma relação inversamente proporcional entre o tempo de prova e valor do VO₂Max (OGUETA-ALDAY et al., 2018). Todavia, diferentemente da classificação brasileira que leva em consideração o quesito saúde (HERDY; CAIXETA, 2016), ainda é extremamente árduo classificar um atleta de elite apenas por este parâmetro fisiológico, visto que a literatura ainda é inconsistente para tal definição (LORENZ et al., 2013).

Por muito tempo o VO₂Max foi considerado o principal fator determinante no desempenho em provas de longa duração. Porém, hoje a EM, definida como estado estável do consumo de oxigênio para uma dada velocidade submáxima ou distância percorrida (FRANCH et al., 1998) e a capacidade de sustentar alta frações do VO₂Max por longos períodos parecem determinar melhores resultados (MCLAUGHLIN et al., 2010).

Estudo realizado com 39 indivíduos não treinados, que passaram posteriormente por 6 semanas de treinamento de *endurance* específico, mostrou que a velocidade final do teste ergoespirométrico para estimar o VO₂Max parece ser o melhor preditor para a performance nos 5.000m independentemente do nível de condicionamento (STRATTON et al., 2009).

1.2.2 Limiar Anaeróbio

Uma definição clássica de L_{An} proposta por Wasserman et al. (1973) seria a intensidade limítrofe entre a predominância metabólica aeróbia e anaeróbia. Esta variável também pode ser chamada de ponto de compensação respiratória, visto que esforços físicos superiores ao L_{An} promovem uma desordem no equilíbrio ácido-base que culmina em uma produção exacerbada de ânions (principalmente íons H⁺) e consequentemente em um aumento desproporcional da ventilação pulmonar (MASSINI et al., 2016). Enquanto antigamente tal medida era considerada um risco para pacientes portadores de doenças cardiovasculares, nos dias de hoje é um ótimo parâmetro para prescrição de exercício físico e se relaciona diretamente com a aptidão aeróbica (SALES et al., 2019).

Partindo-se do pressuposto que a Adenosina Trifosfato (ATP) é necessária para a contração muscular e que, com o avançar da duração do exercício físico os níveis de fosfocreatina (PCr) decaem consideravelmente, há uma maior contribuição da oxidação da glicose (sanguínea ou estocada na forma de glicogênio) pela via glicolítica para produção de energia (CAIRNS, 2006).

Posteriormente, devido ao acúmulo de piruvato no citosol, a mitocôndria não consegue suprir a demanda energética pelo metabolismo aeróbio favorecendo a conversão do ácido pirúvico em lactato (LAC) pela enzima lactato desidrogenase (VAN HALL, 2010). O termo ácido láctico foi por muito tempo utilizado de forma errônea para se referir ao LAC. Atualmente sabe-se que o pH do músculo, mesmo durante o exercício físico extenuante, não alcança valores tão baixos capazes de formar tal molécula em grande quantidade (LINDINGER; KOWALCHUK; HEIGENHAUSER, 2005).

De acordo com Beneke, Leithäuser e Ochentel (2011), a concentração plasmática de LAC é bem sensível a intensidade e duração do exercício, considerando que valores maiores são observados em atividades extenuantes. Conforme a cinética do LAC, concentrações séricas de glicose também tendem a aumentar com o avançar da atividade de *endurance*, sendo que o efeito do treinamento (altamente *versus* moderadamente treinados) pode interferir na capacidade de mobilizar a glicose durante o exercício (NAKAMURA et al., 2016).

Aparentemente, valores de LAC plasmático próximos a 4 mmol/L se relacionam, para a maioria dos indivíduos, ao máximo estado estável de LAC no sangue e consequentemente ao L_{An} (HECK et al., 1985). Considerando que, para o LAC ter uma função integrativa entre as células, é preciso um sistema de transporte facilitado denominado transportadores de monocarboxilatos (MCTs), descritos na literatura em 14 isoformas (HALESTRAP; WILSON, 2012).

Em um estudo conduzido por Aguiar et al. (2015), comparou-se a remoção do LAC após corrida até exaustão entre indivíduos ativos destreinados, velocistas e atletas de *endurance*. Ao final, os autores concluíram que a remoção de LAC é diretamente relacionada com o nível de aptidão aeróbica dos participantes.

De maneira geral, concentrações elevadas de LAC no sangue parecem estar relacionados com a fadiga muscular e se correlacionam negativamente com a performance no *endurance*, visto que tais valores podem prejudicar a EM de corredores (HOFF et al., 2016). Segundo Dittrich et al. (2014), o L_{An} corresponde

aproximadamente a 85% do VO_2Max em corredores bem treinados. Sabe-se que a $\%\text{VO}_2\text{Max}$ no L_{An} , assim como a produção de LAC durante o exercício, estão diretamente relacionadas ao nível de condicionamento físico do indivíduo (MESSONIER et al., 2013).

1.3 Monitoramento do Treinamento Físico

Ao se tratar do esporte de alto rendimento, alterações na carga de treino por meio da manipulação na duração, frequência e/ou intensidade do exercício físico podem favorecer a melhora no desempenho (BELLINGER; ARNOLD; MINAHAN, 2019). Desta forma, além de diminuir o risco de lesões, doenças ou até mesmo um estado de *overreaching* não funcional, monitorar a carga do treinamento facilita a comunicação entre os atletas e toda a equipe que trabalha em prol dos mesmos (HALSON, 2014).

A intensidade do treinamento pode ser mensurada pela carga externa em que geralmente é igual para todos os atletas, como por exemplo a velocidade de corrida durante uma sessão de treino, ou pela carga interna, resposta fisiológica frente ao estímulo que, via de regra, variam entre os indivíduos, por meio da frequência cardíaca ou pela percepção subjetiva de esforço (PSE) (ESTEVE-LANAO et al., 2005).

Dentre estas variáveis, a PSE vem sendo considerada bastante eficaz para quantificar a carga interna de treinamento principalmente por ser uma estratégia simples e de baixo custo (FOSTER et al., 2001). Chaudhary e Sharma (2018) encontraram correlação positiva moderada entre a PSE e valores plasmáticos de LAC em teste de corrida incremental, tanto em indivíduos fisicamente ativos como em atletas.

A primeira escala de PSE foi descrita por Borg (1982) e se caracterizava por valores que variavam entre 6 a 20, o que respectivamente equivaleria a percepção muito fácil ao exaustivo. Alguns anos depois, o mesmo autor desenvolveu uma nova escala de PSE modificada (PSE-10) (Figura 1), que possui 10 níveis de esforço (BORG, 1998).

Figura 1 – Tabela de percepção subjetiva de esforço de 10 níveis.

Classificação	Descritor
0	Repouso
1	Muito, Muito fácil
2	Fácil
3	Moderado
4	Um pouco difícil
5	Difícil
6	-
7	Muito difícil
8	-
9	-
10	Máximo

Fonte: Adaptada de Borg (1998).

Segundo Foster et al. (2001), a carga de treino diária, expressa em unidades arbitrárias (U.A.) pode ser obtida por meio da multiplicação da duração do exercício (minutos) pela PSE-10 equivalente a 30 minutos após o término da atividade.

A partir desta variável, torna-se possível verificar a monotonia do treino (U.A.), calculada pela divisão entre a carga de treino semanal pelo respectivo desvio padrão neste intervalo de tempo, que expressa a variabilidade diária do treinamento dentro deste período (FOSTER, 1998). Além disso, a tensão (U.A.), calculada pela multiplicação entre a somatória da carga de treino semanal pela monotonia, representa o estresse geral ao qual o atleta foi exposto durante a semana de treinamento (FOSTER, 1998).

É visível a evolução no monitoramento da carga de treinos dos indivíduos ao longo do tempo: enquanto no passado os atletas de *endurance* corriam segurando um cronômetro para analisarem o próprio ritmo de prova, atualmente existem diversos métodos, sendo que alguns já foram descritos nos parágrafos anteriores, e no futuro novas tecnologias surgirão para ajudar ainda mais neste propósito (FOSTER; RODRIGUEZ-MARROYO; KONING, 2017).

1.4 Suplementos Alimentares

O sucesso individual no esporte está diretamente relacionado com treinamento, talento, táticas, motivação e a nutrição. Nesta última vertente, ainda há o grupo dos suplementos alimentares que pode ser uma estratégia viável para quem visa, dentre outros objetivos, a melhora no desempenho esportivo (GARTHE; MAUGHAN, 2018).

Segundo a Anvisa, órgão que fiscaliza a qualidade e segurança dos suplementos alimentares no Brasil, tais compostos são definidos como produtos para ingestão oral destinados a suplementar a alimentação de indivíduos saudáveis com nutrientes, substâncias bioativas, enzimas ou probióticos, isolados ou combinados (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2018).

De acordo com uma meta-análise publicada por Knapik et al. (2016), a prevalência pelo uso de suplementos alimentares é alta, independentemente da modalidade esportiva praticada, por atletas de elite ou não elite. Desta forma, a indústria de suplementos investe em novas formulações ano após ano sempre com a promessa de melhoria para os consumidores que, por sua vez, vêm gastando cada vez mais neste setor (COCKBURN, 2014).

Para tentar auxiliar os atletas e seus *staffs* de profissionais, o Comitê Olímpico Internacional disponibilizou recentemente um consenso que classifica alguns suplementos alimentares com boas evidências para beneficiar a performance esportiva em cenários específicos, sendo que a Beta-alanina (BA) seria um destes compostos (MAUGHAN et al., 2018).

1.4.1 Suplementação com Beta-alanina

A BA é um aminoácido não essencial e não-proteinogênico absorvido no trato gastrointestinal, mais precisamente no jejuno e no íleo, e transportado para corrente sanguínea pelos enterócitos (NAVAB et al., 1984). Apesar de poder ser sintetizada no fígado (MATTHEWS; TRAUT, 1987), via degradação da uracila (FRITZSON, 1957), a taxa de síntese endógena é extremamente baixa culminando em concentrações plasmáticas próximas a zero (HARRIS et al., 2006).

A BA vem se tornando um suplemento alimentar muito utilizado por atletas de diversas modalidades esportivas e tal fato se deve, principalmente, ao aumento das concentrações de carnosina intramuscular (BLANCQUAERT; EVERAERT; DERAIVE, 2015). Mesmo que em menor proporção, também seria possível ingerir BA pelo consumo de alimentos que contenham carnosina (carnes vermelhas, peixes, suínos e aves) (SALLES PAINELLI et al., 2015).

A carnosina é um dipeptídeo composto por BA e histidina que foi descoberta pelo russo Vladimir Gulevich em 1900 (BOLDYREV, 2012). Ela recebe este nome em virtude da alta concentração presente no tecido muscular esquelético de

mamíferos, podendo chegar até 30mmol/kg de músculo seco (HARRIS; STELLINGWERFF, 2013). Enquanto em seres humanos ela aparentemente seja o único dipeptídeo contendo histidina no tecido muscular, é possível encontrar análogos a carnosina como a anserina, evidente em diversos mamíferos e até mesmo em aves, e a ofidina, também conhecida como balenina, primariamente presente em cetáceos (ABE, 2000).

Partindo-se do pressuposto de que o músculo esquelético é incapaz de produzir histidina e BA, a síntese de carnosina depende unicamente da captação muscular destes aminoácidos (ARTIOLI et al., 2010). Contudo, a disponibilidade de BA parece ser o ponto limitante para a síntese de carnosina em virtude de possuir uma afinidade muito maior com a enzima carnosina sintase, quando comparada a afinidade desta com a histidina (HARRIS et al., 2006).

Dentre as principais funções da carnosina, destaca-se principalmente a sua capacidade de tamponamento intramuscular perante a produção exacerbada de íons H^+ , decorrente da conversão de piruvato a LAC no final da via glicolítica durante o exercício físico extenuante (HOBSON et al., 2012) ou até mesmo da diminuição na concentração de LAC durante o esforço físico (NADERI et al., 2016). Além disso, por mais inconsistente que ainda seja, a carnosina parece favorecer uma liberação mais rápida do Ca^{2+} estocado nos retículos sarcoplasmáticos e aumentar a sensibilidade da ligação entre este íon e os miofilamentos contráteis (MATTHEWS et al., 2019).

O sistema tampão se caracteriza por substâncias capazes de impedir grandes variações de pH mesmo com a adição de ácidos ou bases (MARZZOCO; TORRES, 2015), evitando quedas acentuadas nesta escala logarítmica, postergando o surgimento da fadiga, visto que valores mais baixos de pH neste meio poderiam diminuir a ressíntese de PCr ou até mesmo inibir reações da via glicolítica (SIEGLER; MARSHALL, 2015).

Estudo pioneiro conduzido por Harris et al. (2006) demonstrou um aumento na concentração intramuscular de carnosina após a suplementação com BA. Diferentemente do que acontece com onívoros, o treinamento físico intervalado de alta intensidade também pode favorecer ao aumento nos níveis desta molécula em vegetarianos (SALLES PAINELLI et al., 2018).

Pesquisa mais recente apontam um aumento de 40 a 80% nas concentrações desta substância tamponante após a suplementação de 3,2 a 6,4g/dia durante 4 a 10 semanas (HOFFMAN; VARANOSKE; STOUT, 2018). Uma vertente que deve ser

levada em consideração durante os protocolos de suplementação é o fracionamento diário da ingestão de BA, pois a administração de doses superiores a 800mg (10mg/kg) pode provocar sintomas de parestesia (HARRIS et al., 2006).

Fora isto, já está bem elucidado na literatura que a suplementação deste aminoácido, respeitando a dose e duração descrita anteriormente, é segura em seres humanos (DOLAN et al., 2019). De acordo com Saunders et al. (2020), a utilização de BA por 24 semanas não promove alterações em marcadores clínicos renais, hepáticos e musculares em indivíduos saudáveis.

Entre os principais fatores que parecem estar relacionados com a melhora na performance após a suplementação com BA, destaca-se a duração do exercício praticado (TREXLER et al., 2015), visto que estudo realizado com velocistas não mostrou melhora no tempo de prova dos 400m após administração de BA (DERAVE et al., 2007).

Uma meta-análise concluiu que exercícios com duração entre 1 e 4 minutos seriam os mais beneficiados pela suplementação (HOBSON et al., 2012). Mais recentemente, Saunders et al. (2017a) propuseram que tal estratégia seria vantajosa para exercícios que perduram entre 0,5 e 10 minutos. Ducker, Dawson e Wallman (2013) observaram melhora no desempenho de corredores de 800m após suplementação (80 mg/kg/dia) durante 28 dias quando comparado ao grupo placebo (PLA).

Ainda não há um consenso sobre a suplementação com BA na performance em exercícios que perdurem mais do que 10 minutos. Enquanto indivíduos fisicamente ativos diminuíram o tempo gasto para completar uma corrida de 10km após suplementação (SANTANA et al., 2018), ciclistas suplementados não apresentaram melhora em teste contra o relógio de 1 hora de duração mesmo após aumentarem a concentração intramuscular de carnosina (CHUNG et al., 2014).

A Sociedade Internacional de Nutrição Esportiva publicou um posicionamento encorajando novas pesquisas em exercícios contínuos de longa duração com intuito de averiguar possíveis recursos ergogênicos da suplementação de BA em tais atividades (TREXLER et al., 2015). Além disso, faltam estudos que relacionam a suplementação de BA na corrida, visto que a maioria das pesquisas avalia o efeito de tal substância em ciclistas (ZANELLA; ALVES; SOUZA, 2017).

1.4.2 Transportadores de Beta-alanina

Posteriormente ao processo de absorção, a BA atinge a circulação e é captada pelos tecidos mediante ação das proteínas transportadoras *Taurine Transporter* (TauT), *Protein Associated with Topoisomerase II* (PAT1) e *Sodium and Chloride Dependent Neutral and Basic Amino Acid Transporter* (ATB⁰⁺), sendo que apenas as duas primeiras estão relacionadas a musculatura esquelética (EVERAERT et al., 2013). Pesquisa conduzida por Drummond et al. (2010) mostrou correlação positiva entre disponibilidade de aminoácidos essenciais e expressão de genes transportadores de proteínas no músculo.

Por outro lado, são raras as investigações avaliando a expressão gênica dos transportadores *TauT* (SLC6A6) e *PAT1* (SLC36A1) após a suplementação com BA. Além disso, a regulação dos níveis de carnosina muscular após suplementação com BA (transcrição, tradução e cinética das enzimas transportadoras) é pouco conhecida.

Estudo com ratos da linhagem C57BL/6 não mostrou alterações na expressão gênica do *TauT* após suplementação durante 4 semanas com BA ou Taurina (HORVATH et al., 2016). Até o presente momento, apenas um estudo realizado com seres humanos (indivíduos ativos) foi conduzido por Saunders et al. (2017b) e mostrou que a suplementação de BA (6,4 g/dia) durante 6 meses diminuiu a expressão gênica do *TauT*, mesmo tendo aumentando os níveis de carnosina intramuscular. Considerando que após deixar o intestino delgado, a BA deve percorrer pela corrente sanguínea para adentrar ao tecido muscular esquelético, avaliar a expressão gênica de seus transportadores no sangue parece ser algo inovador e plausível.

Atualmente, estar atento a pequenas mudanças na expressão de proteínas é necessário para auxiliar na definição da função de diferentes tipos de tecidos e células (SILVA; VOGEL, 2016). Sendo assim, um aumento no número de pesquisas que avaliam a interação entre os nutrientes e os genes (Nutrigenômica) no cenário esportivo vem encorpando o banco de dados científico a fim de elucidar como um atleta responde a alimentos e suplementos alimentares (GUEST et al., 2019).

Diante isto, a hipótese do presente estudo sugere que a suplementação de BA durante 28 dias resultará em aumento na expressão gênica dos transportadores

TauT e *PAT1*, promovendo melhora no rendimento físico de fundistas em corrida de 5 km contra o relógio.

2. Objetivos

2.1 Objetivo Geral

Avaliar o efeito da suplementação de beta-alanina na expressão gênica de seus transportadores *TauT* e *PAT1* e no desempenho de corredores fundistas em corrida de 5 km contra o relógio.

2.2 Objetivos Específicos

1. Avaliar a aptidão cardiorrespiratória, antropometria e composição corporal dos atletas.
2. Avaliar e comparar entre os grupos (placebo e beta-alanina), antes e após o período de intervenção, as seguintes variáveis:
 - a. O tempo gasto pelos corredores para percorrerem os 5 km cronometrando as passagens de cada km;
 - b. As variáveis do treinamento (carga, monotonia e tensão) durante as 4 semanas que separaram os testes físicos;
 - c. A concentração de lactato e a glicemia dos corredores antes e após as corridas de 5 km;
 - d. A ingestão alimentar nas 24 horas e nas 2 horas antecedentes aos testes físicos;
 - e. A expressão gênica dos transportadores de beta-alanina (*TauT* e *PAT1*).

3. Casuística e Métodos

3.1 Casuística

Foram selecionados, por conveniência, 20 corredores de longa duração da cidade de Ribeirão Preto e região. Os participantes do estudo foram esclarecidos a respeito do protocolo da pesquisa, sendo inclusos somente aqueles que estivessem de acordo com a sua realização e que assinassem o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (APÊNDICE A). A pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (HCFMRP) da Universidade de São Paulo (CAAE: 63143916.5.0000.5440) (ANEXO A).

3.2 Critérios de Inclusão

Atletas do sexo masculino, com idade entre 18 e 60 anos, aptos a realizarem uma prova de corrida de 5km com duração igual ou menor a 20 minutos, tempo este que caracteriza os indivíduos como competitivos em âmbito regional e foi encontrado na tabela de classificação de desempenho por idade conforme descrito por Clermont et al. (2017). Além disso, os participantes deveriam praticar a modalidade há pelo menos 3 anos com uma frequência semanal mínima de 4 sessões.

3.3 Critérios de Exclusão

Foram excluídos do estudo atletas que se lesionaram durante a pesquisa, impossibilitando a realização dos testes no intervalo de dias pré-estabelecido e aqueles que não respeitaram o protocolo de suplementação.

3.4 Delineamento do Estudo

Trata-se de um estudo ensaio clínico randomizado com caráter duplo cego. A coleta de dados foi realizada em 3 fases, na primeira foram realizadas avaliações cardiorrespiratória, antropométrica e da composição corporal no laboratório de atividades aquáticas da Escola de Educação Física de Ribeirão Preto (EEFERP) (APÊNDICE B).

Na segunda fase todos os atletas se apresentaram às 06:00 horas, na pista de atletismo do Complexo Esportivo Elba de Pádua Lima (Cava do Bosque). Coletou-se dados da ingestão alimentar do dia anterior, e os atletas foram submetidos ao teste contra o relógio de 5km (Teste 1). Em seguida, os indivíduos foram subdivididos aleatoriamente em dois grupos (PLA ou BA) e receberam seus respectivos suplementos, sendo instruídos quanto ao modo de uso durante as 4 semanas subsequentes. Os indivíduos foram orientados a manter a rotina alimentar e de treinos e monitorar cada sessão de exercício (APÊNDICE C) durante todo período do estudo. Após o período de intervenção (28 dias), os atletas repetiram o teste contra o relógio de 5km (Teste 2).

Foi realizada coleta de sangue periférico antes (T_0) dos testes físicos para avaliação da expressão gênica e de sangue capilar (lóbulo da orelha) nos tempos T_0 , imediatamente após os exercícios (T_1), 3 (T_3), 5 (T_5) e 7 (T_7) minutos após o término dos testes para análise bioquímica (Figura 2).

Figura 2 – Delineamento experimental do estudo.

*A avaliação nutricional foi composta por antropometria e análise da composição corporal

3.5 Antropometria e Composição Corporal

A avaliação antropométrica incluiu medidas de peso e estatura. Para o primeiro indicador, foi utilizada balança digital (Filizola®) do tipo plataforma, com capacidade para 180kg e precisão de 0,1kg, em posição ortostática, no centro da balança, descalços e com roupas leve. Para medida da estatura foi utilizado

estadiômetro (Sanny®, modelo Standard) com altura mínima de 80cm e máxima de 210cm, precisão de 0,1cm, com o indivíduo em pé, localizado no centro do equipamento, descalço, com os calcanhares juntos, costas retas e braços estendidos ao longo do corpo (KAMIMURA et al., 2005).

Para análise da composição corporal utilizou-se o método de dobras cutâneas mensuradas por adipômetro (Lange®), com escala de 0 a 60mm e resolução de 1mm. As medidas foram realizadas em triplicata, adotando-se a média como valor final. Foram realizadas no hemicorpo direito do indivíduo, em repouso, na posição ortostática e sem qualquer tipo de vestimenta na região a ser mensurada. As marcações foram realizadas a um centímetro de profundidade, após dois segundos do pinçamento (GUEDES; GUEDES, 2006).

O local para aferição das 7 dobras utilizadas (subescapular, tricipital, peitoral, axilar média, supra ilíaca, abdominal e coxa) foi baseado no padrão descrito por Harrisson et al. (1991). Com a somatória destas 7 dobras, calculou-se a densidade corporal pela equação de Jackson e Pollock (1978), para homens atletas. Em seguida, a porcentagem de gordura corporal (%GC) foi estimada pela equação de Siri (1961).

3.6 Avaliação Cardiorrespiratória

Foi realizada no Laboratório de Atividades Aquáticas da EEFERP. Os voluntários compareceram às sessões com traje e calçados adequados à prática de exercício físico, após terem ingerido uma refeição leve com, no mínimo, 2 horas de antecedência.

Para a análise dos gases expirados, foi utilizado o analisador de gases (Cosmed®, modelo Quark CPET), acoplado a uma máscara orofacial (Hans Rudolph®, modelo 7900), no modo “*breath-by-breath*”. O equipamento foi previamente calibrado de acordo com as instruções do fabricante (ar ambiente, uma mistura de gases de concentrações conhecidas 16,0% de O₂ e 5,0% de CO₂, e a turbina foi calibrada com uma seringa de 3 litros).

Os testes de esforço cardiopulmonar (TECP) foram realizados em uma esteira ergométrica (Imbrasport®, modelo Super ATL). Para a análise da frequência cardíaca foi utilizado o relógio cardiofrequencímetro (Polar®, modelo M430). Todos os TECP foram precedidos de 5 minutos de aquecimento com velocidade de 8km/h e

realizados com a inclinação da esteira permanecendo em 1% para mimetizar a corrida na rua.

Após o aquecimento, o teste foi iniciado na velocidade de 10km/h, com acréscimo de 1km/h a cada minuto, os testes foram finalizados quando o sujeito julgou-se incapaz de continuar, reiterando que todos foram verbalmente encorajados a postergar a interrupção ao máximo (BENTLEY; NEWELL; BISHOP, 2007).

Aproximadamente 15 minutos após término do TECP, foi realizado teste de verificação (VER), sendo que durante este intervalo os indivíduos permaneceram sentados em descanso passivo (MIDGLEY; CARROL, 2009). Este segundo teste foi iniciado em uma intensidade 10% acima da intensidade máxima atingida no TECP e foi cronometrado o tempo limite de cada atleta até a exaustão voluntária (SCHARHAG-ROSENBERGER et al., 2011).

Ao final, foram obtidas duas variáveis: $VO_2\text{Max}$ relativizado pelo peso corporal (mL/kg/min), obtido quando o quociente respiratório atingiu um valor maior do que 1,10, a frequência cardíaca ter atingido pelo menos 90% da prevista e ter tido diferença nula entre os valores do TECP e do VER, e o L_{An} , quanto a velocidade (km/h) correspondente quanto a porcentagem equivalente $VO_2\text{Max}$, obtido pela análise dos equivalentes respiratórios de oxigênio (VE/VO_2) e de dióxido de carbono (VE/VCO_2).

3.7 Protocolo de Suplementação

Ao término do Teste 1, os atletas receberam aleatoriamente os suplementos que eram compostos por amido (800mg/cápsula) ou BA (CarnoSyn®, 800mg/cápsula), compondo respectivamente o grupo PLA e o grupo BA. Todos os indivíduos foram orientados a ingerir 6 cápsulas ao dia durante 4 semanas, totalizando desta forma o equivalente a 4,8 g de BA (HOFFMAN; VARANOSKE; STOUT, 2018). Além disso, os participantes foram orientados a anotar qualquer efeito colateral que viessem a sentir durante este período de intervenção.

3.8 Testes Físicos

Os protocolos de exercício físico foram realizados em pista de atletismo as 06:00 horas, sendo que a temperatura do ambiente nestes dias variou entre 19 e

22°C. Eles se caracterizaram por uma corrida de 5km, onde os atletas deveriam realizar o percurso total no menor tempo possível (contra o relógio).

Cronometrou-se o tempo, em segundos, gasto para completar o trajeto total, a diferença de tempo do segundo para o primeiro teste físico (delta) e a passagem de cada km (1º ao 5ºkm). Os indivíduos fizeram um aquecimento prévio de 5 minutos de acordo com as preferências individuais antes dos testes.

3.9 Variáveis do Treinamento

Durante todo o período do estudo os atletas preencheram uma tabela (APÊNDICE C) com a duração (minutos) e a PSE-10 (Figura 1) (BORG, 1998) após 30 minutos do término de cada sessão do seu treino habitual.

Com estes dados, foi possível monitorar, durante cada semana, a carga de treino, a monotonia e a tensão, todas expressas em U.A., de ambos os grupos de acordo com o proposto por Foster et al. (2001). Ressalta-se que, para o cálculo destas variáveis, nos dias com dois turnos de treinamento somou-se as duas cargas, enquanto nos dias de descanso (sem nenhuma sessão de exercício físico) o valor estipulado foi igual a zero.

3.10 Variáveis Bioquímicas

Para análise do lactato (mmol/L) e glicemia (mg/dL), coletou-se 25µl de sangue capilar por meio de capilares de vidro heparinizados e calibrados em cinco tempos distintos (T₀, T₁, T₃, T₅ e T₇) para avaliar a cinética da resposta após esforço de alta intensidade (CHATEL et al., 2016). O sangue coletado foi depositado em Eppendorf de 1,5mL contendo 50µl de Fluoreto de Sódio (NaF) e armazenado em - 80°C, para posterior mensuração por meio do lactímetro eletroquímico (Yellow Spring Instruments®, modelo 1500 Sport), segundo as orientações do fabricante.

3.11 Avaliação do Consumo Alimentar

Para a avaliação do consumo alimentar foi aplicado o Recordatório Alimentar de 24 horas (R24h) e para análise quantitativa foi utilizado o programa Dietpro®, versão 5.1. Verificou-se a ingestão energética diária (Kcal), quantidade ingerida de

proteína (PTN), lipídio (LIP) e carboidrato (CHO) (%VCT e g/kg) das 24 horas e (g e g/kg) das 2 horas anteriores aos testes físicos.

3.12 Expressão Gênica

Para análise da expressão gênica, foram coletados 5mL de sangue periférico, armazenadas imediatamente em gelo para posterior extração de RNA.

3.12.1 Extração de RNA

O RNA foi extraído a partir de sangue total, utilizando o método de extração fenolclorofórmio descrito por Chomczynski e Sacchi (1987), a partir de 1mL de Trizol (Invitrogen®). O RNA extraído foi quantificado em espectrofotômetro por fluorescência (Life Technologies®, modelo Qubit® 2.0 Fluorometer) e a absorbância foi medida nos comprimentos de onda de 260, 280 e 230nm, visando avaliação do grau de pureza. As amostras de RNA foram armazenadas à -80°C em alíquotas, visando estabilidade e preservação do RNA, evitando desta forma a degradação do material a cada descongelamento.

3.12.2 Transcrição Reversa

O DNA complementar (cDNA) foi sintetizado utilizando-se kit High-Capacity cDNA Reverse Transcription (Life Technologies®), seguindo as instruções do fabricante. Foram utilizados 1000ng de RNA como *input* para reação com volume final de 50µL.

3.12.3 Análise da Expressão Gênica – PCR em Tempo Real (RT-qPCR)

A análise de expressão gênica foi realizada em triplicata por RT-qPCR utilizando o aparelho 7500 Fast Real PCR System (Applied Biosystems®). Para a reação foram utilizados 50ng de RNA como *input*, em uma reação de volume final de 20 µL. O *fold change* foi calculado considerando a variação do *Cycle Threshold* (Ct) do indivíduo antes do protocolo de suplementação em relação ao Ct do mesmo indivíduo após o protocolo de suplementação. Os resultados foram expressos sob a

forma de $2^{-\Delta\Delta Ct}$. Os números de expressão gênica representam quantas vezes cada gene foi expresso acima ou abaixo quando comparado a ele mesmo após as quatro semanas de intervenção. Posteriormente, comparou-se o $2^{-\Delta\Delta Ct}$ entre os grupos PLA e BA.

Para quantificar a expressão relativa dos genes *TauT* (SLC6A6) e *PAT1* (SLC36A1) por meio da RT-qPCR, foram utilizadas sondas de hidrólise TaqMan MGB 6-FAM fluorogênica (Applied Biosystems®) (Figura 3) de acordo com instruções do fabricante.

Figura 3 – Sondas de hidrólise para os genes avaliados no presente estudo.

GENE	Sonda de Hidrólise
<i>TauT</i>	Hs00161778_m1
<i>PAT1</i>	Hs01092773_m1

3.12.4 Controle Endógeno

Dois genes de referência (*GAPDH* e β -actina) foram utilizados com o objetivo de normalizar a expressão dos mRNAs dos genes alvos.

Esses genes são frequentemente utilizados em estudos para determinar o melhor normalizador para as amostras analisadas. Os genes de referência foram detectados e amplificados por sonda TaqMan MGB 6-FAM fluorogênicas (Applied Biosystems®) (Figura 4).

Figura 4 – Sondas de hidrólise para os genes de referência selecionados para o presente estudo.

GENE	Sonda de Hidrólise
<i>GAPDH</i>	Hs99999905_m1
β -actina	Hs99999903_m1

3.13 Análise Estatística

Os resultados estão expressos em média $\pm$ desvio padrão. Para avaliar a normalidade da distribuição dos dados utilizou-se o Teste de Shapiro-Wilk. Para os dados paramétricos, foi utilizada o teste T pareado e independente para variáveis que possuíam apenas dois momentos, e uma análise de variância (ANOVA) de medidas repetidas com post hoc de Sidak em variáveis com três ou mais momentos

para verificar diferenças intra e intergrupos. Além disso, utilizou-se estatística progressiva (Inferência Baseada em Magnitude) no resultado dos testes físicos para mensurar clinicamente o tamanho do efeito da resposta aos protocolos de suplementação (HOPKINS et al., 2009).

Para os dados não paramétricos, foi utilizado um teste de Mann-Whitney para comparação de dois grupos. Para análise da correlação entre as variáveis, utilizou-se o coeficiente de correlação de Pearson que quantifica a associação entre duas variáveis quantitativas.

O nível de significância adotado foi de $p < 0,05$, sendo que todas as análises foram realizadas no programa Statistical Package for the Social Science versão 20.0 (SPSS Incorporation, 2011).

4. Resultados

Iniciaram o presente estudo 20 atletas do sexo masculino, contudo um atleta de cada grupo se lesionou durante o intervalo entre os testes físicos e foram excluídos do estudo.

Além disso, verificamos dois *outliers*, um de cada grupo, com resultados discrepantes (superior a 2 desvios padrões) quando comparado a média dos grupos que também foram excluídos do estudo (BARNETT; LEWIS, 1994). Desta forma, o tamanho amostral final da pesquisa foi 16 atletas (metade em cada grupo).

A tabela 1 apresenta as variáveis antropométricas, de composição corporal e fisiológicas dos corredores, sendo que na maioria foram semelhantes entre os dois grupos. Apenas a %GC foi maior no grupo BA ($p=0,04$).

Ao avaliar a ocorrência de efeitos colaterais durante o período de suplementação, um atleta do grupo PLA relatou cólica e dois do grupo BA sensação de coceira.

Tabela 1 – Características fisiológicas, antropométricas e da composição corporal dos corredores fundistas.

Variáveis	Grupo PLA (n=8)	Grupo BA (n=8)
Idade (anos)	36,1 ± 9,0	37,4 ± 7,7
Peso (kg)	70,26 ± 6,87	70,66 ± 6,48
Estatura (m)	1,73 ± 0,07	1,75 ± 0,06
Gordura Corporal (%)	8,69 ± 2,23	11,51 ± 2,77*
VO ₂ Max (ml/Kg/min)	62,03 ± 4,48	59,50 ± 5,02
Velocidade no L _{An} (km/h)	16,4 ± 1,2	16,8 ± 1,1
%VO ₂ Max no L _{An}	85,8 ± 2,9	87,9 ± 5,6

VO₂Max: Consumo Máximo de Oxigênio, L_{An}: Limiar Anaeróbio, PLA: placebo, BA: Beta-alanina.

*: $p<0,05$ em relação ao grupo PLA.

Ao analisar o desempenho individual dos atletas de ambos os grupos, observou-se que 11 atletas, sendo cinco do grupo PLA e seis do grupo BA, diminuíram os seus respectivos tempos para completarem os exercícios físicos ao comparar os dois testes. Não houve diferença estatística nem entre os grupos nem entre os dois testes, PLA (1128 ± 72 e 1123 ± 72s) e BA (1107 ± 95 e 1093 ± 86s). Quanto ao delta, apesar de também não ter havido uma diferença estatística, observou-se um valor de 5,3 ± 10s para o grupo PLA e de 13,6 ± 20s para o grupo BA (Figura 5).

A inferência baseada na magnitude mostrou ser provavelmente trivial para o grupo PLA (intervalo de confiança de $\pm 9\%$) e possivelmente trivial para o grupo BA (intervalo de confiança de $\pm 12,4\%$).

Figura 5 – Desempenho de corredores fundistas em testes físicos de 5 km e valor do delta dos grupos placebo e beta-alanina.

PLA: placebo, BA: Beta-alanina.

Quanto a passagem de cada km, foi possível verificar que o grupo PLA obteve um 1º km no Teste 1 ($218 \pm 17s$) mais rápido do que o 3º km no Teste 1 ($229 \pm 15s$, $p=0,04$) e do que o 4º km no Teste 2 ($230 \pm 15s$, $p=0,01$), e um 1º km no Teste 2 ($219 \pm 16s$) mais rápido do que o 3º km no Teste 1 ($p=0,04$). O grupo BA obteve um 1º km no Teste 2 ($212 \pm 21s$) mais rápido do que o 3º km no Teste 1 ($224 \pm 19s$, $p=0,01$) e do que o 4º km no Teste 1 ($225 \pm 18s$, $p=0,02$). Não houve diferenças estatísticas entre os grupos em nenhum km analisado (Figura 6).

Figura 6 – Desempenho de corredores fundistas em testes físicos fragmentado por cada km antes e após protocolo de suplementação.

PLA: placebo, BA: Beta-alanina, T 1: Teste 1, T 2: Teste 2. *: $p < 0,05$ em relação ao 3º km do PLA no Teste 1, #: $p < 0,05$ em relação ao 3º km do BA no Teste 1, *: $p < 0,05$ em relação ao 4º km do PLA no Teste 2, &: $p < 0,05$ em relação ao 4º km do BA no Teste 1.

A análise das variáveis do treinamento mostra diferença estatística da tensão entre as semanas 1 e 4 no grupo PLA ($p=0,03$) e na carga de treino no grupo BA entre as semanas 3 e 4 ($p=0,02$). Além disso, houve diferença na tensão entre os grupos PLA e BA na semana 4 ($p=0,03$). Quanto a monotonia, não foi observada nenhuma diferença nem entre as semanas e nem entre os grupos (Tabela 2).

Tabela 2 – Controle semanal da carga de treino, monotonia e tensão correspondentes as sessões de treino realizadas pelos corredores durante o protocolo de suplementação.

		Carga de Treino (U.A.)	Monotonia (U.A.)	Tensão (U.A.)
Grupo PLA (n=8)	S1	197 ± 70	1,06 ± 0,45	1494 ± 864
	S2	184 ± 70	1,00 ± 0,46	1349 ± 797
	S3	185 ± 90	1,03 ± 0,49	1430 ± 1076
	S4	124 ± 88	0,76 ± 0,42	845 ± 726 [#]
Grupo BA (n=8)	S1	256 ± 148	0,99 ± 0,40	1868 ± 1397
	S2	242 ± 126	1,09 ± 0,33	1781 ± 739
	S3	246 ± 75	1,21 ± 0,34	2050 ± 750
	S4	180 ± 82 [#]	1,05 ± 0,46	1386 ± 872 [*]

PLA: placebo, BA: Beta-alanina, S: semana, U.A.: unidades arbitrárias.

[#]: $p < 0,05$ em relação a semana 3, [#]: $p < 0,05$ em relação a semana 1. ^{*}: $p < 0,05$ em relação ao grupo PLA

Quanto as variáveis bioquímicas (lactato e glicemia), a Tabela 3 demonstra os valores antes e após o protocolo de suplementação. Houve um aumento do LAC (mmol/L) nos tempos T₁, T₃, T₅ e T₇ quando comparado ao tempo T₀ em ambos os grupos nos dois testes do estudo.

Quanto a glicose plasmática (mg/dL), houve uma diferença estatística no teste 1 no grupo BA entre os tempos T₀ e T₅ (p=0,04). Após as quatro semanas de suplementação, as diferenças estatísticas foram observadas no grupo PLA entre o tempo T₀ com T₅ (p= 0,03) e T₇ (p=0,01) e no grupo BA entre o tempo T₀ com T₁ (p=0,001), com T₃ (p=0,01) e com T₇ (p=0,03). Não houve diferença significativa das variáveis analisadas entre os grupos em nenhum tempo.

Tabela 3 - Variação do lactato e da glicemia antes (Teste 1) e após (Teste 2) o protocolo de suplementação de corredores fundistas.

		Grupo PLA (n=8)		Grupo BA (n=8)	
		Teste 1	Teste 2	Teste 1	Teste 2
Lactato (mmol/L)	T ₀	1,4 ± 0,4	1,0 ± 0,2	1,3 ± 0,4	1,2 ± 0,2
	T ₁	8,8 ± 2,6*	6,6 ± 2,3*	7,2 ± 1,5*	7,0 ± 0,8*
	T ₃	9,0 ± 3,8*	7,2 ± 2,8*	7,1 ± 1,6*	7,0 ± 1,2*
	T ₅	8,3 ± 2,9*	6,4 ± 1,4*	6,6 ± 1,5*	6,9 ± 2,6*
	T ₇	7,5 ± 2,1*	6,2 ± 2,2*	6,2 ± 2,3*	5,5 ± 1,5*
Glicemia (mg/dL)	T ₀	70 ± 12	61 ± 14	73 ± 13	63 ± 10
	T ₁	95 ± 28	92 ± 29	110 ± 30	112 ± 18*
	T ₃	98 ± 27	109 ± 37	115 ± 31	116 ± 23*
	T ₅	109 ± 27	106 ± 28*	113 ± 26*	102 ± 35
	T ₇	108 ± 27	112 ± 26*	115 ± 38	108 ± 33*

T₀ (antes do início do exercício), T₁ (imediatamente ao término do exercício), T₃ (3 minutos após o exercício), T₅ (5 minutos após o exercício), T₇ (7 minutos após o exercício), PLA: placebo, BA: Beta-alanina, *: p<0,05 em relação ao tempo T₀.

A Tabela 4 mostra o consumo energético total e dos macronutrientes (PTN, LIP e CHO) nas 24 horas que antecederam os testes físicos para ambos os grupos de intervenção. Ressalta-se que não houve diferença significativa entre os grupos nem entre os momentos analisados.

Tabela 4 - Consumo alimentar das 24 horas antecedentes aos testes físicos realizados por corredores fundistas.

	Grupo PLA (n=8)		Grupo BA (n=8)	
	Teste 1	Teste 2	Teste 1	Teste 2
Calorias (Kcal)	3098 ± 978	2853 ± 889	3188 ± 947	3330 ± 1008
Proteína (%VCT)	21,2 ± 6,6	18,2 ± 2,8	15,3 ± 4,4	16,6 ± 5,3
Proteína (g/kg)	2,3 ± 0,7	1,9 ± 0,6	1,8 ± 0,8	1,9 ± 0,8
Lipídio (%VCT)	27,7 ± 42	33,7 ± 5,2	28,8 ± 7,3	28,7 ± 5,3
Lipídio (g/kg)	1,4 ± 0,6	1,5 ± 0,4	1,5 ± 0,7	1,5 ± 0,4
Carboidrato (%VCT)	51,1 ± 6,6	48,1 ± 4,7	55,9 ± 9,0	54,7 ± 7,8
Carboidrato (g/kg)	5,7 ± 1,9	4,9 ± 1,4	6,2 ± 1,6	6,6 ± 2,6

PLA: placebo, BA: Beta-alanina, VCT: Valor Calórico Total.

Semelhantemente ao resultado descrito anteriormente, mas considerando apenas as 2 horas que precediam o início dos exercícios físicos, os grupos PLA e BA também não apresentaram diferenças significantes entre as variáveis avaliadas (Tabela 5).

Tabela 5 - Consumo alimentar das 2 horas antecedentes aos testes físicos realizados por corredores fundistas.

	Grupo PLA (n=8)		Grupo BA (n=8)	
	Teste 1	Teste 2	Teste 1	Teste 2
Calorias (Kcal)	379 ± 362	147 ± 58	307 ± 162	159 ± 68
Proteína (g)	19 ± 28	2 ± 1	12 ± 8	8 ± 6
Proteína (g/kg)	0,3 ± 0,4	0,1 ± 0,1	0,2 ± 0,1	0,1 ± 0,1
Lipídio (g)	5 ± 5	0 ± 0	8 ± 2	3 ± 3
Lipídio (g/kg)	0,1 ± 0,1	0,0 ± 0,0	0,1 ± 0,1	0,1 ± 0,1
Carboidrato (g)	66 ± 53	34 ± 13	47 ± 37	24 ± 17
Carboidrato (g/kg)	1,0 ± 0,8	0,5 ± 0,2	0,6 ± 0,5	0,3 ± 0,2

PLA: placebo, BA: Beta-alanina.

A Figura 7 mostra a análise da expressão gênica no início do estudo. Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos PLA e BA no gene *TauT* (PLA: $\Delta = 0,05 \pm 0,03$; BA: $\Delta = 0,05 \pm 0,06$, $p=0,98$), assim como no gene *PAT1* (PLA: $\Delta = 0,01 \pm 0,01$; BA: $\Delta = 0,03 \pm 0,03$, $p=0,08$).

Figura 7 – Expressão relativa dos genes *TauT* e *PAT1* em corredores fundistas antes do protocolo de suplementação.

PLA: placebo, BA: Beta-alanina.

No final do estudo não houve diferença na expressão (*fold change*) do gene *TauT* entre os grupos BA e PLA e (Δ : $0,68 \pm 0,33$ vs $0,39 \pm 0,17$) ($p=0,08$). Por outro lado, verificou-se maior expressão do gene *PAT1* no grupo BA quando comparado ao grupo PLA (Δ : $1,17 \pm 0,47$ vs $0,77 \pm 0,18$) ($p=0,04$) (Figura 8).

Figura 8 – Variação da expressão relativa (*fold change*) dos genes *TauT* e *PAT1* em corredores fundistas após protocolo de suplementação.

PLA: placebo, BA: Beta-alanina, Valores expressos em $2^{-\Delta\Delta C_t}$.

*: $p < 0,05$ em relação ao grupo PLA.

Ao correlacionar os parâmetros fisiológicos com o desempenho dos participantes nos testes físicos, observou-se correlação positiva entre a %GC apenas no grupo BA (Figura 9) e negativa para o VO_{2Max} apenas no grupo PLA (Figura 10).

Figura 9 – Correlação entre o percentual de gordura corporal e o desempenho nos testes físicos para o grupo Beta-alanina.

Figura 10 – Correlação entre o $VO_2\text{Max}$ e o desempenho nos testes físicos para o grupo Placebo.

$VO_2\text{Max}$: Consumo Máximo de Oxigênio.

Não houve correlação entre a expressão dos dois genes avaliados e a performance dos atletas (Tabela 6). Mesmo analisando apenas os atletas que melhoram o desempenho entre os testes a resposta se manteve (Figuras 11 e 12).

Figura 11 – Correlação entre o delta dos testes dos atletas que melhoram o desempenho com a variação da expressão do gene *TauT* para os grupos Placebo (A) e Beta-alanina (B).

Figura 12 – Correlação entre o delta dos testes dos atletas que melhoram o desempenho com a variação da expressão do gene *PAT1* para os grupos Placebo (A) e Beta-alanina (B).

As correlações envolvendo as variáveis do treinamento estão descritas na Tabela 6. Foram observadas correlações negativas entre o tempo gasto pelos atletas no Teste 2 com a carga de treino e a tensão da semana 1 (magnitude forte) e com a carga de treino da semana 2 (magnitude muito forte) para o grupo PLA. Por outro lado, no grupo BA foram encontradas correlações negativas fortes entre a monotonia e tensão da semana 4 com o desempenho no segundo teste físico.

Tabela 6 – Correlação entre a expressão dos genes *TauT* e *PAT1* e das variáveis do treinamento com o desempenho de corredores fundistas em teste físico de 5 km após o protocolo de suplementação.

	Grupo PLA		Grupo BA	
	Teste 2 (s)		Teste 2 (s)	
	r	p	r	p
Gene <i>TauT</i>	0,19	0,66	0,01	0,98
Gene <i>PAT1</i>	- 0,20	0,63	0,01	0,99
Carga (U.A.) S1	- 0,82	0,01*	0,08	0,86
Tensão (U.A.) S1	- 0,74	0,04*	- 0,02	0,97
Carga (U.A.) S2	- 0,94	0,001*	- 0,32	0,44
Monotonia (U.A.) S4	- 0,45	0,26	- 0,73	0,04*
Tensão (U.A.) S4	- 0,52	0,19	- 0,78	0,02*

PLA: placebo, BA: Beta-alanina, U.A.: unidades arbitrárias, S: semana, *: $p < 0,05$.

Ao correlacionar as variações da expressão dos genes *TauT* e *PAT1*, observou-se correlação positiva forte no grupo BA (Figura 13).

Figura 13 – Correlação entre a variação da expressão do gene *TauT* com o gene *PAT1* para os grupos Placebo (A) e Beta-alanina (B).

5. Discussão

A presente pesquisa comparou o desempenho de atletas fundistas em testes físicos antes e após protocolo de suplementação (PLA ou BA). O principal achado deste estudo foi um aumento na expressão do *PAT1* após quatro semanas de suplementação com BA. Não houve diferença estatisticamente significativa no tempo para completar os 5km entre os dois grupos. No entanto, além da resposta ao suplemento ser individualizada, um delta (s) entre os testes foi encontrado quase três vezes maior para o grupo BA.

Ao analisar as variáveis fisiológicas e antropométricas dos atletas, pode-se dizer que a idade dos atletas nos grupos PLA e BA (36,1 e 37,4 anos, respectivamente) está acima do que foi encontrado por Haugen et al. (2018) que, ao analisarem 222 atletas de elite do sexo masculino em provas de 5km, verificaram que a idade de pico destes indivíduos era $25,2 \pm 4,1$ anos.

Por outro lado, tal idade se encontra dentro da faixa etária (30 a 39 anos) dos participantes que culminou em menores tempos de prova nas maratonas de New York entre os anos de 2006 a 2016 (NIKOLAIDIS; KNECHTLE, 2017). Aparentemente, indivíduos mais jovens (18 a 24 anos) tendem a ter um desempenho pior quando comparado a faixas etárias mais elevadas em virtude de terem menos experiência e de fatores psicológicos que influenciam no *pacing* de prova (RÜST et al., 2015).

Verificou-se, em ambos os grupos desse estudo, valores mais altos de %CG do que os encontrados em corredores de elite africanos (5,3 a 6,6%) (MOOSES; HACKNEY, 2016) e mais baixos do que os encontrados em um grupo de corredores de rua brasileiros, onde a maioria dos indivíduos apresentava acima de 13% (FERREIRA; BENTO; SILVA, 2015). Além disso, a %GC do grupo PLA foi menor quando comparado ao grupo BA, a qual foi correlacionada com os tempos nos testes. Um acúmulo de tecido adiposo, assim como um excesso no peso corporal mesmo que proveniente de massa isenta de gordura (MIG), pode propiciar um aumento de LAC no sangue e afetar o L_{An} impactando negativamente no desempenho aeróbio (MACIEJCZYK et al., 2014). Todavia, por mais que a %GC contribua na predição do tempo de prova de maratonistas recreacionais, a velocidade de corrida durante o treinamento, assim como a EM, parecem exercer maior influência na duração do exercício (BARANDUN et al., 2012). Desta forma, apesar da maior %GC do grupo BA, não foram observadas diferenças estatísticas entre os tempos nos dois testes físicos entre os grupos.

O VO₂Max de ambos os grupos foi semelhante ao de atletas espanhóis que desempenharam em prova de meia maratona um tempo variando entre 80 e 90 minutos (64,4 e 56,9mL/kg/min, respectivamente) (OGUETA-ALDAY et al., 2018). Além disso, pode-se dizer que de acordo com a Sociedade Brasileira de Cardiologia todos os indivíduos foram classificados como excelente (HERDY; CAIXETA, 2016). Esta variável parece ter mais associação com o desempenho aeróbio em grupo de indivíduos com habilidades atléticas heterogêneas do que grupos com parâmetros mais homogêneos (SANTOS et al., 2012).

De maneira geral, não podemos atribuir um desempenho ótimo durante a corrida considerando apenas o VO₂Max dos atletas, visto que sustentar alta frações do VO₂Max por longos períodos parece contribuir para um bom desempenho em corridas de longa duração (MCLAUGHLIN et al., 2010). A %VO₂Max no L_{An} verificada nesse estudo corrobora com o descrito na literatura para corredores bem treinados ($\approx$ 85% do VO₂Max) (DITTRICH et al., 2014).

Outro ponto que deve ser considerado é que indivíduos com valores similares de VO₂Max podem ter desempenhos diferentes durante o exercício por variarem em até 30% na EM, o que facilitaria no armazenamento e retorno da energia elástica no tendão de Aquiles durante o movimento de corrida (THOMPSON, 2017). Especificamente em corridas de 5km, a EM parece ser a variável alvo a ser trabalhada em atletas de elite, visto que, ao que tudo indica, a %VO₂Max na velocidade de prova não determina o desempenho nesta modalidade esportiva (STOA et al., 2010).

Ao analisar o desempenho dos indivíduos, não foram observadas diferenças estatisticamente significantes entre os grupos nem entre os testes físicos. Tal achado difere do encontrado por Santana et al. (2018), que verificaram melhora no tempo de prova de indivíduos saudáveis em corrida de 10km após suplementação com BA por 23 dias (5g/dia). Segundo tais autores, a diminuição na concentração de LAC, em virtude de um maior tamponamento intramuscular, parece ter favorecido a menor contribuição energética da via glicolítica durante o teste e consequentemente melhora no desempenho.

Considerando que o nível de condicionamento dos atletas da presente pesquisa aparenta ser superior dos que compuseram o estudo de Santana et al. (2018), evidenciado pela diferença do *pacing* de corrida dos indivíduos, a suplementação com BA pode não ter resultado em diferenças estatísticas no

desempenho dos testes por não ter alterado os níveis de LAC antes e após o protocolo de intervenção. Dentre os fatores que influenciam na resposta frente ao treinamento físico, destaca-se o nível de condicionamento inicial, visto que quanto mais alto for tal quesito, menores são as margens para evoluções (GARBER et al., 2011).

Hopkins et al. (2009) propuseram uma análise estatística progressiva no âmbito esportivo baseada na magnitude do resultado. Baseando-se neste modelo, houve nesse estudo um resultado possivelmente trivial no grupo BA, diferentemente do grupo PLA. Mesmo sem diferença estatística significativa houve melhora nos tempos dos testes de 5,3s para o grupo PLA e 13,6s para o grupo BA. De acordo com Saunders et al. (2017a), esse é um efeito positivo de tamanho moderado para atividades com duração superior a 10 minutos. Se compararmos os deltas dos testes, houve no grupo BA redução de aproximadamente 8,5s a mais do que quando comparado ao grupo PLA. Apoiando-se no resultado da prova de 5km masculina nos jogos olímpicos do Brasil em 2016 divulgado pelo *International Olympic Committee*, 8,5s levaria o 12º colocado, Hassan Mead (13 minutos e 9 segundos), para a 1º posição (Mohamed Farah) na classificação geral.

Por outro lado, é necessário destacar, que 11 atletas, cinco do grupo PLA e seis do grupo BA, apresentaram melhora no desempenho dos testes após o protocolo de suplementação.

Ao comparar a passagem de cada km nos testes 1 e 2 não foram observadas diferenças estatísticas entre os grupos. Embora os atletas tivessem mantido uma estratégia de prova muito parecida, a soma das diferenças sutis entre cada km pode ter culminado no delta superior para os que receberam BA. Além disso, ambos os grupos realizaram o 1º km mais rápido quando comparado ao 3º e 4ºkm. Pode-se dizer que, em partes, este início de corrida mais veloz corrobora com o que Tucker, Lambert e Noakes (2006) mostraram em recordistas mundiais de provas de 800, 5.000 e 10.000m. Contudo, diferentemente do que aconteceu em nossa pesquisa, estes pesquisadores também apontaram um aumento do ritmo no estágio final do exercício, caracterizando uma estratégia em “U”.

Segundo Gosztyla et al. (2006), o 1º km mais rápido do que a velocidade média de prova pode resultar em uma redução aproximada de 30s no tempo dos 5km, provavelmente por um menor tempo gasto na fase de aceleração. Além disso, este início mais veloz parece favorecer um menor estresse oxidativo em virtude de

atingir o estado de equilíbrio fisiológico mais rápido (LIMA-SILVA et al., 2010). Todavia, tais estratégias de prova não podem ser consideradas uma regra, visto que cada indivíduo deve avaliar a estratégia que mais lhe convém (CARMO et al., 2012).

Quanto as variáveis do treinamento, é possível mencionar que ambos os grupos tiveram cargas internas semelhantes durante o período de intervenção, visto que poucas foram as diferenças entre estas variáveis. O grupo PLA apresentou tensão, expressa em U.A., menor ($p=0,03$) na semana 4 (845 ± 726) ao comparar com a semana 1 (1.494 ± 864) e com a semana 4 do grupo BA (1.386 ± 872). Pode-se dizer que este grupo foi exposto a um menor estresse geral nesta semana de treinamento (FOSTER, 1998).

Até o presente momento, poucos estudos avaliaram a tensão em corredores. Considerando a amplitude dos valores encontrados para ambos os grupos durante o período de intervenção (845 a 2.050 U.A.), é possível verificar que esteve abaixo do visualizado por Cristina-Souza et al. (2019) em corredores durante uma semana em fase preparatória (≈ 12.500 U.A.). Todavia, tendo em vista que este período em que os atletas estão retornando aos treinos são compostos por atividades extenuantes com intuito de prepará-los para a temporada (DA SILVA et al., 2014), seria justificável tal diferença.

A carga de treino da semana 4 (180 ± 82) foi menor ($p=0,02$) do que a semana 3 (246 ± 75) apenas para o grupo BA. De acordo com pesquisa realizada por Barnes (2017), a carga de treino de corredores de alto nível variou de acordo com a fase da periodização para uma temporada competitiva: período leve (≈ 150 U.A.), moderado (≈ 450 U.A.) e difícil (≈ 650 U.A.). Desta forma, pode-se dizer que os atletas do presente estudo estiveram entre os períodos fácil e moderado.

Segundo Johnston et al. (2019), uma carga de treino semanal acima de 1.200 U.A. aumentaria o risco do atleta de *endurance* se lesionar e/ou sentir dor, o que repercutiria em queda no desempenho esportivo. Contudo, em nenhum dos grupos tal valor foi atingido. Além disso, por mais que os extremos dos valores para a carga de treino (baixa ou alta) possa favorecer a um prejuízo na saúde do atleta, ressalta-se a variação nas respostas individuais dos mesmos frente ao treinamento (GAMBLE, 2013).

Ao dividir a carga de treino semanal (aguda) pela carga semanal média no mês (crônica) se obtém a razão de carga aguda/crônica (WILLIAMS et al., 2017). Segundo Gabbett (2016), valores ótimos para os atletas variam entre 0,8 e 1,3, visto

que desta forma existe menor risco de lesões e melhora no desempenho esportivo. Com exceção da última semana para os dois grupos ($\approx 0,7$), todas as outras estiveram dentro deste intervalo.

Por outro lado, não houve diferença na monotonia dos treinos nem entre as semanas e nem entre os grupos. Além disso, considerando que um valor superior a 2 para esta variável também estaria atrelado ao aumento no risco de lesões e/ou no desencadeamento de *overtraining* (FOSTER, 1998), destaca-se que em nenhuma semana ambos os grupos ultrapassaram tal limite.

Levando-se em consideração a complexidade de fatores que estão relacionados com o desempenho físico, foi realizado uma correlação entre as variáveis do treinamento com o tempo (s) gasto pelos atletas no Teste 2. De certa forma, enquanto aparentemente as duas primeiras semanas (carga e tensão) tiveram mais relação com o desempenho no grupo PLA, apenas a última semana (monotonia e tensão) parece ter exercido influência no grupo BA. Por mais que corredores de longa duração tenham uma tendência a diminuir o volume e aumentar a intensidade dos treinos na semana que antecede o evento, generalizar este dado poderia ser precipitado em virtude das estratégias individuais (SPILSBURY et al., 2015).

Entretanto, com exceção para a tensão na semana 4, reitera-se que não houve diferença entre os grupos para as variáveis do treinamento e no desempenho dos testes. Além disso, mesmo que tivesse ocorrido diferenças entre os treinos, não seria possível garantir a interferência no resultado dos testes. Silva et al. (2017) compararam diferentes estratégias de treinamento, intervalado de alta intensidade (HIIT) *versus* contínuo, durante 4 semanas em corredores de 5km. Por mais que o HIIT tenha promovido algumas melhoras em respostas fisiológicas (EM e velocidade pico em TECP), o tempo de prova não foi diferente entre os grupos.

Conhecer as concentrações de LAC plasmático durante o exercício físico parece ser uma ótima ferramenta para monitorar e/ou estimar a intensidade de determinada atividade ou até mesmo averiguar o nível de condicionamento físico do indivíduo (SANTOS-CONCEJERO et al., 2013). Valores elevados deste composto podem deteriorar a EM de atletas de *endurance* impactando negativamente no desempenho esportivo (HOFF et al., 2016). Nesse estudo, não houve diferença entre os grupos. Além disso, a cinética do LAC no plasma foi semelhante entre os grupos PLA e BA, visto que ambos tiveram valor menor no T₀ comparando aos

demais tempos (T_1 , T_3 , T_5 e T_7). Tal achado era esperado pois, considerando que a necessidade energética é baixa em repouso (T_0), torna-se mais cômodo ao organismo produzir ATP via o metabolismo aeróbio (VAN HALL, 2010). Todavia, em virtude desta demanda muscular estar alta ao término do exercício físico extenuante, estes valores tendem a ultrapassar facilmente o L_{An} (≈ 4 mmol/L) devido ao acúmulo de piruvato no citosol da célula (DEVLIN et al., 2014).

Outros estudos mostraram resultados diferentes dos nossos. Jordan et al. (2010) mostraram que houve aumento na concentração de LAC ao final de um teste incremental na esteira em homens ativos após 28 dias de suplementação de BA quando comparados ao grupo PLA. Da mesma forma, Huerta-Ojeda et al. (2019) mostraram aumento das concentrações de LAC após uma corrida até a exaustão com velocidade equivalente ao $VO_2\text{Max}$ em atletas de *endurance* suplementados agudamente (60 minutos antes do exercício) com BA (30mg/kg).

Este aumento nas concentrações de LAC parece estar relacionado com um maior tamponamento intramuscular oriundo da carnosina, visto que em exercícios anaeróbios o ambiente é mais propenso a uma maior contribuição energética pela via glicolítica resultando em maior produção de LAC (VAN THIENEN et al., 2009). Contudo, a duração do exercício no presente estudo ($\approx 18\text{min}$) foi bem acima do descrito nas duas pesquisas anteriores (≈ 6 a 10min), o que propicia um predomínio do metabolismo aeróbio para a produção de ATP.

Ao analisar a glicemia dos atletas pode-se dizer que a cinética foi semelhante ao do LAC. De maneira geral, as diferenças encontradas por ambos os grupos, em alguns momentos do estudo, apontam menores valores no T_0 quando comparado aos tempos T_1 , T_3 , T_5 e T_7 . Tal achado corrobora com pesquisa realizada pelo nosso laboratório, onde corredores de longa duração submetidos a atividade até a exaustão em intensidade acima do L_{An} obtiveram valores plasmáticos de glicose mais altos mesmo 5 minutos após o término da atividade (FRANCO et al., 2018). Além disso, este resultado já foi descrito por Nakamura et al. (2016), onde assim como o LAC, concentrações séricas de glicose também tendem a aumentar com o avançar da atividade de *endurance*, principalmente pela demanda muscular.

Outros pontos que parecem favorecer o aumento da glicemia ao término do exercício extenuante é a produção endógena de glicose pelo tecido hepático, tanto pela gliconeogênese quanto pela glicogenólise (WEBSTER et al., 2016), e o

aumento das catecolaminas (epinefrina e norepinefrina) em consequência a intensidade de exercício (SORIA et al., 2015). Entretanto, não se pode generalizar a cinética da glicemia para todos os indivíduos pois o nível de condicionamento físico, frente ao estímulo aeróbio, pode influenciar os valores plasmáticos da glicose (SUZUKI et al., 2015).

Quanto a ingestão alimentar dos indivíduos, algo interessante de frisar é a dificuldade em avaliar a rotina dos atletas até mesmo pela fase da periodização do treinamento em que eles se encontram (CAPLING et al., 2017). A realização de três R24h, sendo 2 durante a semana e 1 ao final de semana, aparenta ser uma forma mais aceita pela literatura (DEAKIN; KERR; BOUSHEY, 2015), entretanto, como este não era o objetivo principal da pesquisa, optou-se pela utilização de apenas um R24h para verificar possíveis interferências no desempenho dos testes físicos.

O conceito de disponibilidade energética considera a ingestão calórica diária, o gasto energético proveniente do exercício físico e a quantidade de MIG (THOMAS; ERDMAN; BURKE, 2016). Valor próximo a 45 Kcal/kgMIG/dia seria o preconizado pela literatura, sendo que valores menores do que 30 Kcal/kgMIG/dia poderiam comprometer diversas funções orgânicas, como por exemplo uma diminuição no desempenho em atividades de *endurance* (MAUGHAN et al., 2018). Todavia, nossos dados mostraram que todos os atletas ingeriram acima do limite inferior em ambos os testes. Ressalta-se que não houve diferença entre os grupos na ingestão diária de macronutrientes em nenhum momento do estudo. Por outro lado, ao confrontar com as recomendações para nutrição e desempenho atlético propostas pelo *American College of Sports Medicine*, constatou-se que o grupo PLA ingeriu PTN acima dos valores indicados para atletas (1,2 a 2,0g/kg) antes do Teste 1, LIP esteve dentro da faixa de normalidade para ambos os grupos (> 20% do valor energético total) e CHO aquém do recomendado (6 a 10g/kg) para o grupo PLA em ambos os testes (5,7 e 4,9g/kg, respectivamente) (THOMAS; ERDMAN; BURKE, 2016).

Dentre todos os macronutrientes, o CHO parece ser o primordial para exercícios de *endurance*, visto que dietas ricas em CHO (70 a 80% do VCT) por um curto período de tempo (1 a 3 dias) parece proporcionar melhora no desempenho de exercícios de longa duração por aumentarem a quantidade de glicogênio muscular e hepático (JEUKENDRUP; JENTJENS, 2000). Nossos dados mostraram que em

nenhum momento do estudo os atletas atingiram essa recomendação nas vésperas dos testes físicos.

Também não foram encontradas diferenças entre os grupos e entre os testes no consumo alimentar das 2 horas antecedentes aos testes físicos. Contudo, houve uma redução de aproximadamente metade das Kcal entre o Teste 1 e o Teste 2 (379 para 147Kcal no grupo PLA e 307 para 159Kcal no grupo BA). Segundo Thomas, Erdman e Burke (2016), a refeição que precede o exercício deve acontecer entre 1 a 4 horas do início da atividade, ter baixos níveis de PTN e LIP, fornecer entre 1 a 4g/kg de CHO e considerar as preferências/experiências dos atletas. Para os dois macronutrientes citados inicialmente, ambos os grupos respeitaram tal diretriz. Quanto ao CHO, pode-se dizer que apenas o grupo PLA atingiu a quantidade recomendada antes do Teste 1, visto que os demais momentos ficaram aquém. Entretanto, considerando que o início dos testes foi às 06:00 horas, seria um empecilho para que os indivíduos acordassem com este tempo prévio para se alimentarem.

Ingerir um grande volume de alimentos próximo ao início do exercício pode ocasionar em desconfortos gastrointestinais que possivelmente influenciaria no desempenho físico (OLIVEIRA; BURINI; JEUKENDRUP, 2014). Sendo assim, Jeukendrup (2017) sugere que treinar o intestino poderia auxiliar nestas queixas que acometem 30 a 50% de atletas de *endurance* mas, para isso, o organismo precisaria se adaptar a tais estratégias e isto demandaria pelo menos 2 semanas. Algo interessante de frisar é que todos os atletas foram instruídos a manter o hábito alimentar, minimizando desta forma uma possível interferência no desempenho dos testes físicos.

Hoje, a busca por desvendar os mecanismos moleculares envolvidos nas respostas frente ao exercício assim como a suplementação nutricional torna-se fundamental. Nesse estudo, após a suplementação de BA por quatro semanas, houve um aumento da expressão do gene *PAT1* ($p=0,04$), sem diferença para o *TauT*. Tal resultado é novo no cenário científico, visto que o único estudo que analisou a expressão desses genes em seres humanos até o momento, avaliou tecido muscular de indivíduos treinados e mostrou menor expressão do *TauT*, sem diferença para o *PAT1* após suplementação com BA (SAUNDERS et al., 2017b). Esta diferença pode ser suportada pela variação dos tecidos analisados (músculo esquelético *versus* sangue periférico), pelo nível de treinamento dos indivíduos, que

foram diferentes entre os estudos ou podemos ainda especular que após a saturação da BA no músculo esquelético (PERIM et al., 2019), haveria um aumento no sangue periférico mostrado nesse estudo pela maior expressão do *PAT1*.

É importante considerar que o ambiente, como fator epigenético, incluindo o exercício físico, pode alterar os fenótipos por regular como os genes se expressam (STEVENS; RUCKLIDGE; KENNEDY, 2018). Portanto, diferentes níveis de treinamento podem influenciar a expressão de genes específicos (REZAPOUR; SHIRAVAND; MARDANI, 2018). Sendo assim, futuras pesquisas que englobam diferentes níveis de condicionamento físico poderiam avaliar variações na expressão de genes específicos.

Uma possível explicação para a expressão do *TauT* não ter se alterado seria o fato deste gene ser dependente dos íons Na^+ e Cl^- , enquanto o gene *PAT1* é acoplado a íons H^+ (ANDERSON et al., 2009). Considerado que a prática periódica de exercício intenso leva a hidrólise de ATP pela demanda energética, seria mais frequente uma alta concentração de H^+ nesta população (ROBERGS, 2017). Por outro lado, no grupo suplementado com BA observou-se correlação ($p=0,02$) entre as variações da expressão dos genes *TauT* e *PAT1*. Tal achado corrobora com o encontrado por Everaert et al. (2013), porém avaliando ratos, denotando que os genes possuem funções interligadas.

Não foram observados valores significantes ao correlacionar a variação na expressão dos genes *TauT* e *PAT1* com o desempenho, nem mesmo quando analisados somente os atletas que melhoraram após o protocolo de suplementação. Desta forma, além de não haver relação direta entre a expressão destes genes e o tempo de prova nos 5km, seria precipitado restringir a melhora no desempenho de atletas a apenas uma variável visto que ele está atrelado a diversos fatores (MALCATA; HOPKINS, 2014).

A busca pelo esclarecimento dos mecanismos moleculares resultantes do uso de suplementos é muito recente e, de fato, ainda estamos encontrando as peças de um quebra-cabeça. Seria importante correlacionar a expressão desses genes no sangue com a do tecido muscular, assim como com as concentrações de carnosina no músculo. Além disso, o aumento do tamanho amostral poderia trazer maiores esclarecimentos.

6. Conclusão

Com base no que foi apresentado, a suplementação com BA durante 4 semanas promoveu um aumento na expressão do *PAT1*, mas não resultou em melhora no desempenho em testes de 5km. No entanto, as respostas individuais ao suplemento merecem ser consideradas, uma vez que o grupo BA obteve um delta superior ao grupo PLA.

Quanto aos parâmetros fisiológicos dos indivíduos, eles estavam condizentes com a maioria dos atletas da modalidade em questão, sendo que o %GC do grupo BA foi maior do que o do grupo PLA.

Com exceção para a tensão na semana 4, as variáveis do treinamento foram semelhantes entre os grupos minimizando qualquer interferência do treinamento no desempenho dos atletas.

De modo geral, as concentrações plasmáticas de LAC e a glicemia aumentaram ao término dos testes, mas sem diferenças entre os grupos. Considerando o quesito alimentar, ambos os grupos tiveram ingestão semelhantes nos dias anteriores aos testes e, via de regra, estava próxima ao preconizado pela literatura.

Referências¹

¹*De acordo com a Associação Brasileira de Normas Técnicas. NBR 6023.*

- ABE, H. Role of histidine-related compounds as intracellular proton buffering constituents in vertebrate muscle. **Biochemistry**, New York, v. 65, n. 7, p. 757-765, 2000.
- AGUIAR, R. A. et al. Relationships between VO₂ and blood lactate responses after all-out running exercise. **Appl Physiol Nutr Metab**, Ottawa, v. 40, n. 3, p. 263-268, 2015.
- ANDERSON, C. M. H. et al. Taurine uptake across the human intestinal brush-border membrane is via two transporters: H⁺-coupled PAT1 (SLC36A1) and Na⁺- and Cl⁻-dependent TauT (SLC6A6). **J Physiol**, London, v. 587, n. 4, p. 731-744, 2009.
- ARTIOLI, G. G. et al. Role of beta-alanine supplementation on muscle carnosine and exercise performance. **Med Sci Sports Exerc**, Madison, v. 42, n. 6, p. 1162-1173, 2010.
- BARANDUN, U. et al. Running speed during training and percent body fat predict race time in recreational male marathoners. **J Sports Med**, Auckland, v. 3, p. 51-58, 2012.
- BARNES, K. R. Comparisons of perceived training doses in champion collegiate-level male and female cross-country runners and coaches over the course of a competitive season. **Sports Med Open**, Auckland, v. 3, n. 38, p. 1-9, 2017.
- BARNETT, V.; LEWIS, T. **Outliers in statistical data**. 3 Ed, New Jersey: John Wiley and Sons, 1994, 582 pp.
- BELLINGER, P.; ARNOLD, B.; MINAHAN, C. Quantifying the training-intensity distribution in middle-distance runners: the influence of different methods of training-intensity quantification. **Int J Sports Physiol Perform**, Champaign, v. 12, p. 1-20, 2019.
- BENEKE, R.; LEITHÄUSER, R. M.; OCHENTEL, O. Blood lactate diagnostics in exercise testing and training. **Int J Sports Physiol Perform**, Champaign, v. 6, n. 1, p. 8-24, 2011.
- BENTLEY, D. J.; NEWELL, J.; BISHOP, D. Incremental exercise test design and analysis: implications for performance diagnostics in endurance athletes. **Sports Med**, Auckland, v. 37, n. 7, p. 575-586, 2007.
- BLANCQUAERT, L.; EVERAERT, I.; DERAIVE, W. Beta-alanine supplementation, muscle carnosine and exercise performance. **Curr Opin Clin Nutr Metab Care**, London, v. 18, n. 1, p. 63-70, 2015.
- BOLDYREV, A. A. Carnosine: new concept for the function of an old molecule. **Biochemistry**, New York, v. 77, n. 4, p. 313-326, 2012.
- BORG, G. Psychophysical bases of perceived exertion. **Med Sci Sports Exerc**, Madison, v. 14, n. 5, p. 377-381, 1982.

- BORG, G. The Borg CR10 scale. In:_____. **Borg's perceived exertion and pain scales**. Champaign: Human Kinetics Books, 1998. Cap. 6, p. 39-43.
- CAIRNS, S. P. Lactic acid and exercise performance: culprit or friend? **Sports Med**, Auckland, v. 36, n. 4, p. 279-291, 2006.
- CAMPOS-FERRAZ, P. L. Corrida e maratona. In: HIRSCHBRUCH, M. D. **Nutrição esportiva: uma visão prática**. 3 Ed. Barueri: Manole, 2014. Cap. 17, p. 133-140.
- CAPLING, L. et al. Validity of dietary assessment in athletes: a systematic review. **Nutrients**, Basel, v. 9, n. 12, p. 1-26, 2017.
- CARMO, E. C. et al. Estratégia de corrida em média e longa distância: como ocorrem os ajustes de velocidade ao longo da prova? **Rev Bras Educ Fís Esporte**, São Paulo, v. 26, n. 2, p. 351-363, 2010.
- CHATEL, B. et al. Lactate recovery kinetics in response to high-intensity exercises. **Eur J Appl Physiol**, Berlin, v. 116, n. 8, p. 1455-1465, 2016.
- CHAUDHARY, S.; SHARMA, M. Relationship of rate of perceived exertion on lactate threshold and physiological variables with incremental running test. **Saudi J Sports Med**, Mumbai, v. 18, p. 5-9, 2018.
- CHOMCZYNSKI, P.; SACCHI, N. Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. **Anal Biochem.**, Orlando, v.162, n.1, p. 156–159, 1987.
- CHUNG, W. et al. Doubling of muscle carnosine concentration does not improve laboratory 1-hr cycling time-trial performance. **Int J Sport Nutr Exerc Metab**, Champaign, v. 24, n. 3, p. 315-324, 2014.
- CLERMONT, C. A. et al. Kinematic gait patterns in competitive and recreational runners. **J Appl Biomech**, Champaign, v. 33, n. 4, p. 268-276, 2017.
- CLOSE, G. L. et al. Nutrition for the prevention and treatment of injuries in track and field athletes. **Int J Sport Nutr Exerc Metab**, Champaign, v. 29, n. 2, p. 189-197, 2019.
- COCKBURN, D. M. Nutritional supplements: simply a waste of money or poorly targeted? **Clin Exp Optom**, Carlton, v. 97, n. 4, p. 289-290, 2014.
- CRISTINA-SOUZA, G. et al. Monitoring training load in runners, throwers and sprinters/jumpers during a preparatory training camp. **J Phys Educ Sport**, Pitesti, v. 19, n. 1, p. 173-177, 2019.
- DANIELS, J. Parâmetros de aptidão física e de intensidade. In:_____. **Fórmula de corrida de Daniels**. 2 Ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. Cap. 3, p. 73-94.

DA SILVA, D. F. et al. Longitudinal changes in cardiac autonomic function and aerobic fitness indices in endurance runners: a case study with a high-level team. **Eur J Appl Physiol**, Berlin, v. 14, n. 5, p. 443-451, 2014.

DEAKIN, V.; KERR, D.; BOUSHEY, C. Measuring nutritional status of athletes: clinical and research perspectives. In: Burke, L. M., Deakin, V. **Clinical sports nutrition**. 5 Ed. North Ryde: McGraw-Hill, 2015; Cap. 2, p. 27-53.

DENADAI, B. S; ORTIZ, M. J.; MELLO, M. T. Índices fisiológicos associados com a "performance" aeróbia em corredores de "endurance": efeitos da duração da prova. de avaliação aeróbia: conceitos e aplicações. **Rev Bras Med Esporte**, Niterói, v. 10, n. 5, p. 401-404, 2004.

DERAVE, W. et al. Beta-Alanine supplementation augments muscle carnosine content and attenuates fatigue during repeated isokinetic contraction bouts in trained sprinters. **J Appl Physiol**, Bethesda, v. 103, n. 5, p. 1736-1743, 2007.

DEVLIN, J. et al. Blood lactate clearance after maximal exercise depends on active recovery intensity. **J Sports Med Phys Fitness**, Torino, v. 54, n. 3, p. 271-278, 2014.

DITTRICH, N. et al. Time to exhaustion at continuous and intermittent maximal lactate steady state during running exercise. **Int J Sports Physiol Perform**, Champaign, v. 9, n. 5, p. 772-776, 2014.

DOLAN, E. et al. A systematic risk assessment and meta-analysis on the use of oral β -alanine supplementation. **Adv Nutr**, Bethesda, v. 10, n. 3, p. 452-463, 2019.

DRUMMOND, M. J. et al. An increase in essential amino acid availability upregulates amino acid transporter expression in human skeletal muscle. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, Bethesda, v. 298, n. 5, p. 1011-1018, 2010.

DUCKER, K. J.; DAWSON, B.; WALLMAN, K. E. Effect of beta-alanine supplementation on 800-m running performance. **Int J Sport Nutr Exerc Metab**, Champaign, v. 23, n. 6, p. 554-561, 2013.

ESTEVE-LANAO, J. et al. How do endurance runners actually train? Relationship with competition performance. **Med Sci Sports Exerc**, Madison, v. 37, n. 3, p. 496-504, 2005.

EVERAERT, I. et al. Gene expression of carnosine-related enzymes and transporters in skeletal muscle. **Eur J Appl Physiol**, Berlin, v. 113, n. 5, p. 1169-1179, 2013.

FEDERAÇÃO PAULISTA DE ATLETISMO. **Corrida de rua**: estatísticas de 2017. Disponível em: < <http://www.atletismofpa.org.br/source/Demonstrativo-de-Corridas-de-Rua-nos-Ultimos-Anos-no-Estado-de-Sao-Paulo-2017.pdf>>. Acesso em: 15 jul. 2019.

FERREIRA, V. R.; BENTO, A. P. N.; SILVA, M. R. Consumo alimentar, perfil antropométrico e conhecimentos em nutrição de corredores de rua. **Rev Bras Med Esporte**, Niterói, v. 21, n. 6, p. 457-461, 2015.

- FRANCO, G. S. et al. Addition of protein in carbohydrate supplementation does not improve performance of amateur runners in exercise above the anaerobic threshold. **J Food Nutr Res**, Newark, v. 6, n. 6, p. 400-405, 2018.
- FOSTER, C. Monitoring training in athletes with reference to overtraining syndrome. **Med Sci Sports Exerc**, Madison, v.30, n. 7, p. 1164-1168, 1998.
- FOSTER, C. et al. A new approach to monitoring exercise training. **J Strength Cond Res**, Champaign, v. 15, n. 1, p. 109-115, 2001.
- FOSTER, C.; RODRIGUEZ-MARROYO, J. A.; KONING, J. J. Monitoring training loads: the past, the present, and the future. **Int J Sports Physiol Perfom**, Champaign, v. 12, n. 2, p. 22-28, 2017.
- FRANCH, J. et al. Improved running economy following intensified training correlates with reduced ventilator demands. **Med Sci Sports Exerc**, Madison, v. 30, n. 8, p. 1250-1256, 1998.
- FRITZSON, P. The catabolism of C14-labeled uracil, dihydrouracil, and beta-ureidopropionic acid in rat liver slices. **J Biol Chem**, Baltimore, v. 226, n. 1, p. 223-228, 1957.
- GABBETT, T. J. The training-injury prevention paradox: should athletes be training smarter and harder? **Br J Sports Med**, Loughborough, v. 50, n. 5, p. 273-280, 2016.
- GAMBLE, P. Reducing injury in elite sport - Is simply restricting workloads really the answer? **N Z J Sports Med**, Dunedin, v. 40, n. 1, p. 36-38, 2013.
- GARBER, C. E. et al. Quantity and quality of exercise for developing and maintaining cardiorespiratory, musculoskeletal, and neuromotor fitness in apparently healthy adults: guidance for prescribing exercise. **Med Sci Sports Exerc**, Madison, v. 43, n. 7, p. 1334-1359, 2011.
- GARTHE, I.; MAUGHAN, R. J. Athletes and Supplements: Prevalence and Perspectives. **Int J Sport Nutr Exerc Metab**, Champaign, v. 28, n. 2, p. 126-138, 2018.
- GOSZTYLA, A. E. et al. The impact of different pacing strategies on five-kilometer running time trial performance. **J Strength Cond Res**, Champaign, v. 20, n. 4, p. 882-886, 2006.
- GUEDES, D. P.; GUEDES, E. R. P. Avaliação da composição corporal. In: _____. **Manual prático para avaliação em educação física**. Barueri: Manole, 2006, Cap. 7, p. 191-244.
- GUEST, N. S. et al. Sport Nutrigenomics: Personalized Nutrition for Athletic Performance. **Front Nutr**, Lausanne, v. 6, n. 8, p. 1-16, 2019.
- HALESTRAP, A. P.; WILSON, M. C. The monocarboxylate transporter family-role and regulation. **IUBMB Life**, London, v. 64, n. 2, p. 109-119, 2012.

- HALSON, S. L. Monitoring training load to understand fatigue in athletes. **Sports Med**, Auckland, v. 44, n. 2, p. 139-147, 2014.
- HARRIS, R. C. et al. The absorption of orally supplied beta-alanine and its effect on muscle carnosine synthesis in human vastus lateralis. **Amino Acids**, Vienna, v. 30, n. 3, p. 279-289, 2006.
- HARRIS, R. C.; STELLINGWERFF, T. Effect of β -alanine supplementation on high-intensity exercise performance. **Nestle Nutr Inst Workshop Ser**, Basel, v. 76, n. 1, p. 61-71, 2013.
- HARRISON, G. G. et al. Skinfold thicknesses and measurement technique. In: LOHMAN, T. G.; ROCHE, A. F.; MARTORELL, R. **Anthropometric standardization reference manual**. Champaign: Human Kinetics Books, 1991. Cap. 5, p. 56-70.
- HAUGEN, T. A. et al. Peak age and performance progression in world-class track-and-field athletes. **Int J Sports Physiol Perform**, Champaign, v. 13, n. 9, p. 1122-1129, 2018.
- HAWKINS, M. N. et al. Maximal oxygen uptake as a parametric measure of cardiorespiratory capacity. **Med Sci Sports Exerc**, Madison, v. 39, n. 1, p. 103-107, 2007.
- HECK, H. et al. Justification of the 4-mmol/l lactate threshold. **Int J Sports Med**, Stuttgart, v. 6, n. 3, p. 117-130, 1985.
- HERDY, A. H.; CAIXETA, A. Classificação nacional da aptidão cardiorrespiratória pelo consumo máximo de oxigênio. **Arq Bras Cardiol**, Rio de Janeiro, v. 106, n. 5, p. 389-395, 2016.
- HOBSON, R. M. et al. Effects of β -alanine supplementation on exercise performance: a meta-analysis. **Amino Acids**, Vienna, v. 43, n. 1, p. 5-37, 2012.
- HOFF, J. et al. Increased blood lactate level deteriorates running economy in world class endurance athletes. **J Strength Cond Res**, Champaign, v. 30, n. 5, p. 1373-1378, 2016.
- HOFFMAN, J. R.; VARANOSKE, A.; STOUT, J. R. Effects of β -alanine supplementation on carnosine elevation and physiological performance. **Adv Food Nutr Res**, San Diego, v. 84, p. 183-206, 2018.
- HOPKINS, W. G. et al. Progressive Statistics for Studies in Sports Medicine and Exercise Science. **Med Sci Sports Exerc**, Madison, v. 41, n. 1, p. 3 – 13, 2009.
- HORVATH, D. M. et al. The effect of taurine and β -alanine supplementation on taurine transporter protein and fatigue resistance in skeletal muscle from mdx mice. **Amino Acids**, Vienna, v. 48, n. 11 p. 2635-2645, 2016.

HUERTA-OJEDA, A. et al. Effects of acute supplementation with beta-alanine on a limited time test at maximum aerobic speed on endurance athletes. **Nutr Hosp**, Madrid, v. 36, n. 3, p. 698-705, 2019.

INTERNATIONAL ASSOCIATION OF ATHLETICS FEDERATIONS. **Disciplines**. Disponível em: < <http://www.iaaf.org/disciplines>>. Acesso em: 08 jul. 2019.

_____. **Records and list**. Disponível em: <<https://www.iaaf.org/records/all-time-toplists/middle-long/5000-metres>>. Acesso em: 10 jul. 2019.

INTERNATIONAL OLYMPIC COMMITTEE. **Results**. Disponível em: <<https://www.olympic.org/rio-2016/athletics/5000m-men>>. Acesso em: 07 ago. 2019.

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

JEUKENDRUP, A. E. Training the gut for athletes. **Sports Med**, Auckland, v. 29, n. 6, p. 101-110, 2017.

JEUKENDRUP, A. E.; JENTJENS, R. Oxidation of carbohydrate feedings during prolonged exercise: current thoughts, guidelines and directions for future research. **Sports Med**, Auckland, v. 47, n. 1, p. 407-424, 2000.

JOHNSTON, R. et al. Training load and baseline characteristics associated with new injury/pain within an endurance sporting population: a prospective study. **Int J Sports Physiol Perform**, Champaign, v. 14, n. 5, p. 590-597, 2019.

JORDAN, T. et al. Effect of beta-alanine supplementation on the onset of blood lactate accumulation (OBLA) during treadmill running: pre/post 2 treatment experimental design. **J Int Soc Sports Nutr**, Woodland Park, v. 7, n. 20, p. 1-7, 2010.

KAMIMURA, M. A. et al. Avaliação Nutricional. In: CUPPARI, L. (Org.). **Guia de nutrição: nutrição clínica no adulto**. 2. ed. Barueri: Manole, 2005, Cap. 6, p. 89-127.

KNAPIK, J. J. et al. Prevalence of dietary supplement use by athletes: systematic review and meta-analysis. **Sports Med**, Auckland, v. 46, n. 1, p. 103-123, 2016.

LIMA-SILVA, A. E. et al. Effect of performance level on pacing strategy during a 10-km running race. **Eur J Appl Physiol**, Berlin, v. 108, n. 5, p. 1045-1053, 2010.

LINDINGER, M. L.; KOWALCHUK, J. M.; HEIGENHAUSER, G. J. Applying physicochemical principles to skeletal muscle acid-base status. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, Bethesda, v. 289, n. 3, p. 891-894, 2005.

LORENZ, D. S. et al. What performance characteristics determine elite versus nonelite athletes in the same sport? *Sports Health*, **Thousand Oaks** v. 5, n. 6, p. 542-547, 2013.

- MACIEJCZYK, M. et al. Effect of body composition on respiratory compensation point during an incremental test. **J Strength Cond Res**, Champaign, v. 28, n. 7, p. 2071-2077, 2014.
- MALCATA, R. M.; HOPKINS, W. G. Variability of competitive performance of elite athletes: a systematic review. **Sports Med**, Auckland, v. 44, n. 12, p. 1763-1774, 2014.
- MARZZOCO, A.; TORRES, B. B. Sistema-tampão. In: _____. **Bioquímica básica**. 4 Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2015. Cap. 1, p. 3-10.
- MASSINI, D. A. et al. Resposta fisiológica e perceptual na velocidade crítica e ponto de compensação respiratória. **Rev Bras Med Esporte**, Niterói, v. 22, n. 6, p. 439-444, 2016.
- MATTHEWS, J. J. et al. The physiological roles of carnosine and β -alanine in exercising human skeletal muscle. **Med Sci Sports Exerc**, Madison, v. 51, n. 10, p. 2098-2108, 2019.
- MATTHEWS, M. M.; TRAUT, T. W. Regulation of N-carbamoyl-beta-alanine amidohydrolase, the terminal enzyme in pyrimidine catabolism, by ligand-induced change in polymerization. **J Biol Chem**, Baltimore, v. 262, n. 15, p. 7232-7237, 1987.
- MATTHIESEN, S. Q. O atletismo em discussão: campo teórico. In: _____. **Atletismo: teoria e prática**. 2 Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2017. Cap. 1, p. 17-21.
- MAUGHAN, R. J. et al. IOC consensus statement: dietary supplements and the high-performance athlete. **Br J Sports Med**, Loughborough, v. 52, n. 7, p. 439-455, 2018.
- MCARDLE, W. D.; KATCH, F. I.; KATCH, V. L. Transferência de energia na atividade física. In: _____. **Fisiologia do exercício: energia, nutrição e desempenho humano**. 8 Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2016. Cap. 7, p. 165-182.
- MCLAUGHLIN, J. E. et al. Test of the classic model for predicting endurance running performance. **Med Sci Sports Exerc**, Madison, v. 42, n. 5, p. 991-997, 2010.
- MESSONIER, L. A. et al. Lactate kinetics at the lactate threshold in trained and untrained men. **J Appl Physiol**, Bethesda, v. 114, n. 11, p. 1593-1602, 2013.
- MIDGLEY, A. W.; CARROLL, S. Emergence of the verification phase procedure for confirming 'true' VO(2max). **Scand J Med Sci Sports**, Copenhagen, v. 19, n. 3, p. 313-322, 2009.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE. **RDC 243 que dispõe sobre os requisitos sanitários dos suplementos alimentares**. Brasília, 2018.
- MOOSES, M.; HACKNEY, A. C. Anthropometrics and body composition in east african runners: potential impact on performance. **Int J Sports Physiol Perform**, Champaign, v. 12, n. 4, p. 422-430, 2017.

- NADERI, A. et al. Effect of four weeks of β -alanine supplementation on muscle carnosine and blood serum lactate during exercise in male rats. **J Diet Suppl**, London, v. 13, n. 5, p. 487-494, 2016.
- NAKAMURA, K. et al. Blood glucose and lactate kinetics during an incremental running test in endurance runners. **Int J Sport Health Sci**, Tokyo, v. 14, p. 11-20, 2016.
- NAVAB, F. et al. Mechanisms of transport of L-histidine and beta-alanine in hamster small intestine. **Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol**, Bethesda, v. 247, n. 1, p. 43-51, 1984.
- NIKOLAIDIS, P. T.; KNECHTLE, B. Effect of age and performance on pacing of marathon runners. **J Sports Med**, Auckland, v. 21, n. 8, p. 171-180, 2017.
- OGUETA-ALDAY, A. et al. Similarities and differences among halfmarathon runners according to their performance level. **Plos One**, San Francisco, v. 13, n. 1, p. 1-11, 2018.
- OLIVEIRA, D. G. et al. Prevalência de lesões e tipo de treinamento de atletas amadores de corrida de rua. **Corpus et Scientia**, Rio de Janeiro, v. 8, n. 1, p. 51-59, 2012.
- OLIVEIRA, E. P.; BURINI, R. C.; JEUKENDRUP, A. Gastrointestinal complaints during exercise: prevalence, etiology, and nutritional recommendations. **Sports Med**, Auckland, v. 44, n. 1, p. 79-85, 2014.
- PERIM, P. et al. Can the skeletal muscle carnosine response to beta-alanine supplementation be optimized? **Front Nutr**, Lausanne, v. 6, n. 135, p. 1-10, 2019.
- PULEO, J.; MILROY, P. A evolução do corredor. In: _____. **Anatomia da corrida: guia ilustrado de força, velocidade e resistência para a corrida**. Barueri: Manole, 2010, Cap. 1, p. 1-10.
- REZAPOUR, S.; SHIRAVAND, M.; MARDANI, M. Epigenetic changes due to physical activity. **Biotechnol Appl Biochem**, San Diego, v. 65, n. 6, p. 761-767, 2018.
- ROBERGS, R. A. Competitive cation binding computations of proton balance for reactions of the phosphagen and glycolytic energy systems within skeletal muscle. **Plos One**, San Francisco, v. 12, n. 12, p. 1-24, 2017.
- RÜST, C. A. et al. Do non-elite older runners slow down more than younger runners in a 100 km ultra-marathon? **BMC Sports Sci Med Rehabil**, London, v. 7, n. 1, p. 1-5, 2015.
- SALES, M. M. et al. An integrative perspective of the anaerobic threshold. **Physiol Behav**, New York, v. 205, p. 29-32, 2019.

- SALLES PAINELLI, V. et al. Metabolismo de carnosina, suplementação de β -alanina e desempenho físico: atualização – parte I. **RBNE**, São Paulo, v. 9, n. 52, p. 361-378, 2015.
- SALLES PAINELLI, V. et al. High-intensity interval training augments muscle carnosine in the absence of dietary beta-alanine intake. **Med Sci Sports Exer**, Madison, v. 50, n. 11, p. 2242-2252, 2018.
- SANTANA, J. O. et al. Beta-alanine supplementation improved 10km running time trial in physically active adults. **Front Physiol**, Lausanne, v. 9, p. 1-6, 2018.
- SANTOS, T. M. et al. VO₂ máx estimado e sua velocidade correspondente predizem o desempenho de corredores amadores. **Rev Bras Cineantropom Desempenho Hum**, Florianópolis, v. 14, n. 2, p. 192-201, 2012.
- SANTOS-CONCEJERO, J. et al. Time to exhaustion at the onset of blood lactate accumulation in runners with different athletic ability. **Rev Bras Med Esporte**, Niterói, v. 19, n. 4, p. 297-302, 2013.
- SAUNDERS, B. et al. Beta-alanine supplementation to improve exercise capacity and performance: a systematic review and meta-analysis. **Br J Sports Med**, Loughborough, v. 51, n. 8, p. 658-669, 2017a.
- SAUNDERS, B. et al. Twenty-four weeks of β -alanine supplementation on carnosine content, related genes, and exercise. **Med Sci Sports Exerc**, Madison, v. 49, n. 5, p. 896-906, 2017b.
- SAUNDERS, B. et al. 24-Week β -alanine ingestion does not affect muscle taurine or clinical blood parameters in healthy males. **Eur J Nutr**, Darmstadt, v. 59, n. 1, p. 57-65, 2020.
- SCHARHAG-ROSENBERGER, F. et al. How to test maximal oxygen uptake: a study on timing and testing procedure of a supramaximal verification test. **Appl Physiol Nutr Metab**, Ottawa, v. 36, n. 1, p. 153-160, 2011.
- SIEGLER, J. C.; MARSHALL, P. The effect of metabolic alkalosis on central and peripheral mechanisms associated with exercise-induced muscle fatigue in humans. **Exp Physiol**, Cambridge, v. 100, n. 5, p. 519-530, 2015.
- SILVA, G. M.; VOGEL, C. Quantifying gene expression: the importance of being subtle. **Mol Syst Biol**, London, v. 12, n. 885, p. 1-2, 2016.
- SILVA, R. et al. Effects of a 4-week high-intensity interval training on pacing during 5-km running trial. **Braz J Med Bio Res**, Ribeirão Preto, v. 50, n. 12, p. 1-7, 2017.
- SIRI, W. E. Body composition from fluid spaces and density: analysis of methods. In: BROZEK, J.; HENSCHER, A. **Techniques for measuring body composition**. Washington: National Academy of Sciences, 1961. Cap. 15, 233-244.

- SORIA, M. et al. Plasma levels of trace elements and exercise induced stress hormones in well-trained athletes. **J Trace Elem Med Biol**, Stuttgart, v. 31, n. 1, p. 113-119, 2015.
- SOUZA, K. M. et al. Variáveis fisiológicas e neuromusculares associadas com a performance aeróbia em corredores de endurance: efeitos da distância da prova. **Rev Bras Med Esporte**, Niterói, v. 17, n. 1, p. 40-44, 2011.
- SPERLICH, P. F. et al. Individual versus standardized running protocols in the determination of VO₂max. **J Sports Sci Med**, Bursa, v. 14, n. 2, p. 386-393, 2015.
- SPILSBURY, K. L. et al. Tapering strategies in elite British endurance runners. **Eur J Appl Physiol**, Berlin, v. 15, n. 5, p. 367-373, 2015.
- STEVENS, A. J.; RUCKLIDGE, J. J.; KENNEDY, M. A. Epigenetics, nutrition and mental health. Is there a relationship? **Nutr Neurosci**, London, v. 21, n. 9, p. 602-613, 2018.
- STOA, E. M. et al. Percent utilization of vo₂max at 5-km competition velocity does not determine time performance at 5 km among elite distance runners. **J Strength Cond Res**, Champaign, v. 24, n. 5, p. 1340-1345, 2010.
- STRATTON, E. et al. Treadmill velocity best predicts 5000-m run performance. **Int J Sports Med**, Stuttgart, v. 30, n. 1, p. 40-45, 2009.
- SUZUKI, Y. et al. Different training status may alter the continuous blood glucose kinetics in self-paced endurance running. **Exp Ther Med**, Athens, v. 10, n. 3, p. 978-982, 2015.
- THOMAS, D. T.; ERDMAN, K. A.; BURKE, L. M. Position of the academy of nutrition and dietetics, dietitians of canada, and the american college of sports medicine: nutrition and athletic performance. **J Acad Nutr Diet**, New York, v. 116, n. 3, p. 501-528, 2016.
- THOMPSON, M. A. physiological and biomechanical mechanisms of distance specific human running performance. **Integr Comp Biol**, McLean, v. 57, n. 2, p. 293-300, 2017.
- TOMAZINI, F. et al. Head-to-head running race simulation alters pacing strategy, performance, and mood state. **Physiol Behav**, New York, v. 149, p. 39-44, 2015.
- TREXLER, E. T. et al. International society of sports nutrition position stand: beta-alanine. **J Int Soc Sports Nutr**, Woodland Park, v. 15, n. 1, p. 12-30, 2015.
- TUCKER, R.; LAMBERT, M. I.; NOAKES, T. D. An analysis of pacing strategies during men's world-record performances in track athletics. **Int J Sports Physiol Perform**, Champaign, v. 1, n. 3, p. 233-245, 2006.
- VAN HALL, G. Lactate kinetics in human tissues at rest and during exercise. **Acta Physiol**, Oxford, v. 199, n. 4, p. 499-508, 2010.

VAN THIENEN, R. et al. Beta-alanine improves sprint performance in endurance cycling. **Med Sci Sports Exerc**, Madison, v. 41, n. 4, p. 898-903, 2009.

VITTI, A. et al. The “New York City marathon”: participation and performance trends of 1.2M runners during half-century. **Res Sports Med**, Philadelphia, v. 19, p. 1-17, 2019.

WASSERMAN, K. et al. Anaerobic threshold and respiratory gas exchange during exercise. **J Appl Physiol**, Berlin, v. 35, n. 2, p. 236-243, 1973.

WEBSTER, C. C. et al. Gluconeogenesis during endurance exercise in cyclists habituated to a long-term low carbohydrate high-fat diet. **J Physiol**, London, v. 594, n. 15, p. 4389-4405, 2016.

WILLIAMS, S. et al. Better way to determine the acute:chronic workload ratio? **Br J Sports Med**, Loughborough, v. 51, n. 3, p. 209-210, 2017.

WORP, M. P. et al. Injuries in runners; a systematic review on risk factors and sex differences. **Plos One**, San Francisco, v. 10, n. 2, p. 1-18, 2015.

ZANELLA, P. B.; ALVES, F. D.; SOUZA, C. G. Effects of beta-alanine supplementation on performance and muscle fatigue in athletes and non-athletes of different sports: a systematic review. **J Sports Med Phys Fitness**, Torino, v. 57, n. 9, p. 1132-1141, 2017.

Apêndices

APÊNDICE A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido **UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO
DEPARTAMENTO DE CLÍNICA MÉDICA****TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

Gostaria de convidá-lo a participar de um estudo com nome de “Efeito da Suplementação de Beta-alanina na Expressão Gênica de seus Transportadores e no Desempenho de Corredores Fundistas”, coordenado pela professora Carla Barbosa Nonino, da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo e com participação do aluno de doutorado Gabriel Silveira Franco, estudante da mesma instituição. Os dados do estudo serão realizados pelos dois pesquisadores citados logo acima, na Escola de Educação Física e Esporte de Ribeirão Preto localizada na Universidade de São Paulo, Avenida Bandeirantes, 3900, Monte Alegre e na pista de atletismo do Complexo Esportivo Elba de Pádua Lima (Cava do Bosque) localizada na Rua Camilo de Mattos, 627, Jardim Mosteiro, com data e horário agendado previamente. O objetivo é comparar o desempenho físico de corredores após a ingestão de um composto contendo açúcar (placebo) ou de um composto contendo um aminoácido (beta-alanina). A justificativa desta pesquisa se dá principalmente pelo fato de haver muitos suplementos alimentares sendo vendidos no mercado que não possuem nenhuma comprovação de que realmente tragam benefícios aos usuários.

Sua participação consistirá em realizar duas corridas de 5km no menor tempo possível, com intervalo de 28 dias entre cada, após a suplementação com uma destas substâncias citadas anteriormente. Você receberá de forma aleatória (ao acaso) um pote contendo cápsulas de um destes compostos. Deverá ingerir 6 cápsulas ao dia (uma em cada refeição) durante 28 dias. Nem nós pesquisadores nem você participante saberá qual dos suplementos irá ingerir. Ressalta-se que único efeito colateral que você pode sentir é uma sensação de coceira na pele.

Será realizado inicialmente um teste de esforço máximo realizado em uma esteira rolante no Laboratório de Atividades Aquáticas da Escola de Educação Física para avaliar a sua capacidade de tolerar ao exercício físico intenso (VO2max). Esta avaliação inicia com uma velocidade baixa e após 1 minuto há um aumento da velocidade até um estágio que você não consiga mais continuar correndo. Você pode sentir um cansaço por conta do teste.

O desempenho físico será avaliado através do tempo necessário para completar os 5 Km na pista de atletismo. Além disso, haverá uma coleta de sangue da veia do antebraço

realizada por uma enfermeira antes a realização de cada teste e outra coleta de sangue da orelha antes e após o término de cada teste. Este sangue será armazenado em local específico em nosso laboratório para possíveis análises no futuro. Através dessas coletas avaliaremos substâncias bioquímicas que nos dirá o quanto difícil será a execução de cada teste. Vale a pena dizer que as coletas de sangue podem causar um pequeno desconforto semelhante a uma picada.

Antes do início de cada teste, iremos perguntar sobre todos alimentos e suas quantidades que você comeu no dia anterior. Através desse recordatório, conseguiremos quantificar quantas calorias você ingeriu.

Os exames de avaliação das dimensões corporais (antropometria) incluem: peso, altura e medida de dobras cutâneas. Este último serve para analisar qual o seu percentual de gordura corporal. Ele é realizado por um equipamento específico, chamado adipômetro, e pode causar uma dor mínima em sua pele semelhante a um beliscão leve. Por mais que o estudo pode causar estes pequenos desconfortos ditos anteriormente, a pesquisa não causará sensações que possam oferecer risco a sua saúde.

Sua participação é voluntária nesta pesquisa e se tiver o interesse em participar, estará colaborando para que se entenda melhor se o composto em análise pode ser benéfico para quem pratica corridas de 5 Km. Todos os dados colhidos serão utilizados apenas para objetivos desta pesquisa, sendo mantido o sigilo e a preservação da sua identidade. Caso ocorra algum dano direto ou indireto decorrente da sua participação desta pesquisa, será fornecida toda assistência médica necessária com direito a indenização.

Esclarecemos que você poderá se recusar a participar da pesquisa e/ou desistir de continuar participando a qualquer momento sem qualquer penalização. Como benefício, terá acesso a dados que pode te ajudar em sua prática diária da corrida, como por exemplo o seu percentual de gordura corporal e sua capacidade de tolerar ao esforço físico (VO₂max). Além disso, após ao final da pesquisa você terá acesso a todos os resultados deste estudo.

É interessante ressaltar que você não terá qualquer tipo de gasto com as avaliações, procedimentos que serão feitos nesta pesquisa, transporte e alimentação. Caso não haja disponibilidade de você ir ao local estabelecido, basta entrar em contato com os pesquisadores para que eles providenciem uma maneira de solucionar o problema, seja fornecendo uma carona ou pagando um meio de locomoção.

Qualquer dúvida apresentada antes, durante e após a pesquisa, você poderá entrar em contato conosco para esclarecimentos todos os dias e horários pelo telefone (16) 3602-4810, pelos e-mails gabriel_franco85@hotmail.com e carla@fmrp.usp.br ou pelos celulares (16)

99796-7994 (Gabriel) e (16) 98124-0707 (Carla). Para dúvidas éticas, o telefone do Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital das Clínicas e da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto é (16) 3602-2228. Após sua assinatura, uma via deste termo fica com você com a nossa assinatura e uma rubrica em todos as páginas de todos envolvidos: você participante e nós pesquisadores.

Nome do Participante: _____ Assinatura: _____ Data: _____

Nome do Pesquisador: _____ Assinatura: _____ Data: _____

Nome do Pesquisador: _____ Assinatura: _____ Data: _____

APÊNDICE B – Autorização do Laboratório da EEFERP **AUTORIZAÇÃO**

Eu, Marcelo Papoti, responsável pelo laboratório de Atividades Aquáticas da Escola de Educação Física e Esporte de Ribeirão Preto, venho por meio deste autorizar o aluno de doutorado Gabriel Silveira Franco, pertencente ao departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, coletar dados de sua pesquisa, cujo o título é "Efeito da suplementação de beta-alanina na expressão gênica de seus transportadores e no desempenho de corredores fundistas", no espaço mencionado anteriormente..

Ribeirão Preto, 23 de Março de 2017,

Assinatura manuscrita do responsável, sobre uma linha horizontal.

Assinatura do Responsável

APÊNDICE C – Monitoramento do Treinamento Físico**MONITORAMENTO DO TREINAMENTO FÍSICO**

Nome: _____

Treino 1: Data: _____ PSE: _____ Tempo em Minutos: _____

Treino 2: Data: _____ PSE: _____ Tempo em Minutos: _____

Treino 3: Data: _____ PSE: _____ Tempo em Minutos: _____

Treino 4: Data: _____ PSE: _____ Tempo em Minutos: _____

Treino 5: Data: _____ PSE: _____ Tempo em Minutos: _____

Treino 6: Data: _____ PSE: _____ Tempo em Minutos: _____

Treino 7: Data: _____ PSE: _____ Tempo em Minutos: _____

Treino 8: Data: _____ PSE: _____ Tempo em Minutos: _____

Treino 9: Data: _____ PSE: _____ Tempo em Minutos: _____

Treino 10: Data: _____ PSE: _____ Tempo em Minutos: _____

Treino 11: Data: _____ PSE: _____ Tempo em Minutos: _____

Treino 12: Data: _____ PSE: _____ Tempo em Minutos: _____

Treino 13: Data: _____ PSE: _____ Tempo em Minutos: _____

Treino 14: Data: _____ PSE: _____ Tempo em Minutos: _____

Treino 15: Data: _____ PSE: _____ Tempo em Minutos: _____

Treino 16: Data: _____ PSE: _____ Tempo em Minutos: _____

Treino 17: Data: _____ PSE: _____ Tempo em Minutos: _____

Treino 18: Data: _____ PSE: _____ Tempo em Minutos: _____

Treino 19: Data: _____ PSE: _____ Tempo em Minutos: _____

Treino 20: Data: _____ PSE: _____ Tempo em Minutos: _____

Treino 21: Data: _____ PSE: _____ Tempo em Minutos: _____

Treino 22: Data: _____ PSE: _____ Tempo em Minutos: _____

Treino 23: Data: _____ PSE: _____ Tempo em Minutos: _____

Treino 24: Data: _____ PSE: _____ Tempo em Minutos: _____

Treino 25: Data: _____ PSE: _____ Tempo em Minutos: _____

Treino 26: Data: _____ PSE: _____ Tempo em Minutos: _____

Treino 27: Data: _____ PSE: _____ Tempo em Minutos: _____

Treino 28: Data: _____ PSE: _____ Tempo em Minutos: _____

Treino 29: Data: _____ PSE: _____ Tempo em Minutos: _____

Treino 30: Data: _____ PSE: _____ Tempo em Minutos: _____

Treino 31: Data: _____ PSE: _____ Tempo em Minutos: _____

Treino 32: Data: _____ PSE: _____ Tempo em Minutos: _____

Treino 33: Data: _____ PSE: _____ Tempo em Minutos: _____

Treino 34: Data: _____ PSE: _____ Tempo em Minutos: _____

Sentiu algum desconforto/efeito colateral ao longo do experimento? S () ou N ()

Caso a resposta tenha sido sim, escreva o que sentiu:

***PODE ACONTECER DE TER DOIS TREINOS NO DIA (REALIZAR DUAS MARCAÇÕES COM A MESMA DATA)
LEVAR ESTA FOLHA JUNTO COM VOCÊ NO TESTE 2 NA PISTA (APÓS 28 DIAS DA REALIZAÇÃO DO PRIMEIRO TESTE)***

Tabela 1. Escala CR10 de Borg (1982) modificada por Foster et al. (2001).

Classificação	Descritor
0	Repouso
1	Muito, muito fácil
2	Fácil
3	Moderado
4	Um pouco difícil
5	Difícil
6	-
7	Muito difícil
8	-
9	-
10	Máximo

Anexo

ANEXO A - Parecer do Comitê de Ética

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA
DE RIBEIRÃO PRETO DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

Ribeirão Preto, 24 de maio de 2017.

Ofício nº 1535/2017
CEP/MGV

PROCESSO HCRP nº 16266/2016

Prezados Pesquisadores,

O trabalho intitulado **“EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DE BETA-ALANINA NA EXPRESSÃO GÊNICA DE SEUS TRANSPORTADORES E NO DESEMPENHO DE CORREDORES FUNDISTAS” – Projeto de Pesquisa Versão 2 (alterado em 18 de abril de 2017)**, foi analisado pelo Comitê de Ética em Pesquisa, em sua 450ª Reunião Ordinária realizada em 22/05/2017, e enquadrado na categoria: **APROVADO, bem como o Biorrepositório denominado “Genômica e Esporte” e o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e para Guarda de Material Biológico.**

De acordo com Carta Circular nº 003/2011/CONEP/CNS, datada de 21/03/2011, o sujeito de pesquisa ou seu representante, quando for o caso, deverá rubricar todas as folhas do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE – aponto sua assinatura na última do referido Termo; o pesquisador responsável deverá da mesma forma, rubricar todas as folhas do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE – aponto sua assinatura na última página do referido Termo.

Este Comitê segue integralmente a Conferência Internacional de Harmonização de Boas Práticas Clínicas (IGH-GCP), bem como a Resolução nº 466/2012 CNS/MS.

Lembramos que devem ser apresentados a este CEP, o Relatório Parcial e o Relatório Final da pesquisa.

Atenciosamente.

DRª MARCIA GUIMARÃES VILLANOVA

Coordenadora do Comitê de Ética em
Pesquisa do HCRP e da FMRP-USP

Ilustríssimos Senhores
GABRIEL SILVEIRA FRANCO
PROFª DRª CARLA BARBOSA NONINO (Orientadora)
Depto. de Clínica Médica

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Campus Universitário – Monte Alegre
14048-900 Ribeirão Preto SP

Comitê de Ética em Pesquisa do HCRP e FMRP-USP
FWA-00002733; IRB-00002186 e
Registro Plataforma Brasil /CONEP nº 5440
(016) 3602-2228
cep@hcrp.usp.br

www.hcrp.usp.br