**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE EDUCAÇÃO FÍSICA E ESPORTE**

VITOR DE SALLES PAINELLI

**Influência do estado de treinamento sobre o desempenho físico em
resposta à suplementação de beta-alanina**

São Paulo

2013

VITOR DE SALLES PAINELLI

Influência do estado de treinamento sobre o desempenho físico em resposta
à suplementação de beta-alanina

Dissertação apresentada à Escola de
Educação Física e Esporte da
Universidade de São Paulo, como
requisito parcial para a obtenção do
grau de Mestre em Ciências.

Área de Concentração: Biodinâmica do
Movimento do Corpo Humano

Orientador: Prof. Dr. Antonio Herbert
Lancha Junior

São Paulo

2013

Nome: PAINELLI, Vitor de Salles

Título: Influência do estado de treinamento sobre o desempenho físico em resposta à suplementação de beta-alanina.

.

Dissertação apresentada à Escola de Educação Física e Esporte da Universidade de São Paulo, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Ciências.

Aprovado em:

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos os colegas da Escola de Educação Física e Esporte (EEFE) que tanto colaboraram para a realização desta dissertação. Em especial, agradeço a Guilherme, Marina, Victão, Chris, Rafa, Johnny, Aline, Fabi, Desire, Mariê, Carlão, Will, Rebeca, Paty, Claudia, Humberto, Wagner e Igor pela confiança no meu trabalho.

Agradeço aos alunos Vinicius Eira e Luana Farias pela valiosa ajuda no recrutamento de voluntários para o estudo e colaboração durante a execução das sessões experimentais.

Agradeço imensamente a todos os atletas e não-atletas que participaram deste estudo. Vocês foram corajosos e resistentes o suficiente para completar as 4 séries de Wingate para membro inferior, um teste que definitivamente "separa os homens dos meninos". Sem vocês, nada disso teria sido possível.

Agradeço a todos os pesquisadores da EEFE que colaboraram imensamente na realização desse estudo, com destaque aos professores Bruno Gualano, Hamilton Roschel e Julio Cerca Serrão.

Agradeço também aos pesquisadores Bryan Saunders, Craig Sale e Roger Charles Harris, que mesmo a um continente de distância tiveram contribuição e participação espetaculares neste estudo.

Agradeço ao querido orientador Antonio Herbert Lancha Junior, que gentilmente me recebeu em seu laboratório no momento em que decidi ingressar na vida acadêmica, e desde então, tem me apoiado incondicionalmente.

Agradeço às funcionárias da EEFE, Elza Maria Alves da Silva Faria e Shirley Bernardino de Oliveira, por toda a paciência e ajuda com a importação do suplemento necessário ao estudo.

Agradeço a própria EEFE, pela qual nutro sentimentos de respeito, orgulho e gratidão.

Agradeço ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (número do processo: 130601/2011-0) e à Fundação de Amparo à Pesquisa no

Estado de São Paulo (número do processo: 2010/11221-0) pelo auxílio financeiro, sem o qual este estudo não poderia ter sido conduzido.

Agradeço à Agência Nacional de Vigilância Sanitária, por ter atrasado em 2 anos a chegada do suplemento necessário a este estudo e outros no nosso laboratório, me ensinando, dessa forma, a ser uma pessoa extremamente paciente e esperançosa. É por conta de instituições como vocês que o nosso país está, pelo menos, 10 anos atrasados em termos de publicação científica na área.

Agradeço a toda a minha família, em especial, meus pais, Sérgio e Cinira, pelas valiosas lições de caráter e perseverança que me formaram como homem. Também agradeço ao meu irmão, Gustavo, pela amizade e companheirismo ao longo dos anos.

Agradeço à minha namorada Caroline, por todo o carinho, respeito, atenção e amor compartilhados desde o início de nosso relacionamento e que se mantêm até hoje.

Agradeço a todos os ex-profissionais, profissionais e alunos da Academia Galpão, de São Bernardo do Campo, por transformarem meu treino de cada dia num momento divertido, prazeroso e terapêutico.

Agradeço também a todos que de alguma forma me ajudaram e/ou tiveram grande contribuição para este trabalho e para a minha vida, mas que, por um indício de Alzheimer, estou esquecendo de incluir nestes Agradecimentos.

Por último, mas não por menos, agradeço a mim mesmo, que nos momentos mais árduos e obscuros deste primeiro período de pós-graduação, jamais me deixei levar por caminhos ruins nem cair nas tentações mundanas.

"Falando genericamente, todas as partes do corpo
que têm uma função, se usadas com moderação
e exercitadas no labor ao qual estão acostumadas,
tornam-se, em consequência, saudáveis, bem
desenvolvidas, e envelhecem devagar.
Mas, se deixadas sem o uso e ociosas,
elas tornam-se expostas a doenças no
crescimento, e envelhecem rapidamente."

(Hipócrates)

RESUMO

PAINELLI, V. S. Influência do estado de treinamento sobre o desempenho físico em resposta à suplementação de beta-alanina. 2013. Dissertação (Mestrado) - Escola de Educação Física e Esporte, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2013.

Estudos recentes têm demonstrado que a suplementação de beta-alanina (BA) pode melhorar o desempenho físico. O mecanismo proposto para tal resultado envolve o aumento das concentrações intramusculares de carnosina, um dipeptídeo cuja função mais bem atribuída é a de manutenção do equilíbrio ácido-básico. Apesar do emergente corpo literário acerca dos efeitos ergogênicos da suplementação de BA, a maior parte das evidências provém de estudos conduzidos com indivíduos não treinados ou fisicamente ativos, enquanto os estudos com indivíduos treinados são escassos, e seus resultados, controversos. Tem sido especulado que a diferença na capacidade tamponante muscular entre indivíduos treinados e não treinados é um possível fator mascarando o efeito ergogênico da suplementação de BA em indivíduos treinados, já que têm sido demonstrado que este perfil de indivíduos possui maior capacidade tamponante e conteúdo muscular de carnosina. Assim, o objetivo do presente estudo foi investigar a influência do estado de treinamento sobre o desempenho físico intermitente de membros inferiores em resposta à suplementação de BA. Para tanto, 40 homens jovens e saudáveis foram recrutados para participar do estudo, e divididos em dois grupos de acordo com o seu estado de treinamento [ciclistas treinados (T) ou indivíduos não treinados (NT)]. Os participantes foram aleatoriamente designados a um grupo suplementado com BA ou placebo (dextrose - PL), provendo quatro condições experimentais: NTPL, NTBA, TPL e TBA. A suplementação foi realizada com a ingestão de 6.4 gramas de BA ou PL por dia, durante 4 semanas. Antes e após o período de suplementação, os participantes completaram 4 séries do teste de Wingate para membro inferior, com 30 segundos de duração cada uma e 3 minutos de descanso entre elas. O trabalho

total realizado foi significativamente aumentado após o período de suplementação em ambos os grupos NTBA ($+1349 \pm 1411$ kJ; $P = 0.03$) e TBA ($+1978 \pm 1508$ kJ; $P = 0.002$), foi significativamente reduzido no grupo NTPL (-1385 ± 2815 kJ; $P = 0.03$), e não se alterou no grupo TPL (-219 ± 1507 kJ; $P = 0.73$). Comparada ao período pré-suplementação, a potência média no período pós-suplementação foi significativamente maior na série 4 para o grupo NTBA ($P = 0.0004$), enquanto a mesma foi maior nas séries 1, 2 e 4 ($P \leq 0.05$) para o grupo TBA. Não foram observadas diferenças na potência média entre o período pré- e pós-suplementação para os grupos NTPL e TPL. Em conclusão, quatro semanas de suplementação de BA foram efetivas em melhorar o desempenho físico intermitente de membros inferiores em ambos os participantes treinados e não treinados. Estes dados ressaltam a eficácia ergogênica da suplementação de BA para exercícios de alta-intensidade, independentemente do estado de treinamento do indivíduo.

Palavras-chave: *beta-alanina, carnosina, tamponamento, exercício intermitente.*

ABSTRACT

PAINELLI, V. S. **Influence of training status on physical performance in response to beta-alanine supplementation**. 2013. Dissertação (Mestrado) - Escola de Educação Física e Esporte, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2013.

Recent studies have demonstrated that beta-alanine (BA) supplementation can improve performance. The proposed mechanisms for this result involve an increased muscle carnosine content, a dipeptide whose function is attributed to the maintenance of acid-base balance. Even though the body of evidence surrounding the ergogenic effects of BA supplementation is increasing, most of the evidences come from studies conducted with physically active or untrained individuals, while studies with trained participants are scarce, and their results, controversial. It has been speculated that the difference in muscle buffering capacity between trained and untrained individuals is a possible factor masking the ergogenic effect of BA supplementation in trained individuals, who have already been demonstrated to have greater buffering capacity and muscle carnosine content. Therefore, the aim of this study was to investigate the influence of training status on intermittent lower-body performance in response to BA supplementation. For this purpose, forty young males were divided into two groups according to their training status (trained - T, and untrained - NT cyclists). Participants were further randomly allocated to BA or placebo (dextrose - PL) groups, providing four experimental conditions: NTPL, NTBA, TPL, TBA. BA or PL was ingested by $6.4 \text{ g} \cdot \text{d}^{-1}$, during for 4 weeks. Before and after the supplementation period, participants completed four 30-seconds lower-body Wingate bouts, separated by 3 minutes. Total work done was significantly increased following supplementation in both NTBA ($+1349 \pm 1411 \text{ kJ}$; $P = 0.03$) and TBA ($+1978 \pm 1508 \text{ kJ}$; $P = 0.002$), and it was significantly reduced in NTPL ($-1385 \pm 2815 \text{ kJ}$; $P = 0.03$) with no difference for TPL ($-219 \pm 1507 \text{ kJ}$; $P = 0.73$). Compared to pre-supplementation, post-supplementation mean power output was significantly higher

in bout 4 for NTBA ($P = 0.0004$), and higher in bouts 1, 2 and 4 ($P \leq 0.05$) for TBA. No differences were observed in mean power output for NTPL and TPL from pre- to post-supplementation period. In conclusion, four weeks of BA supplementation was effective at improving intermittent lower-body performance in both untrained and trained individuals. These data highlight the efficacy of BA as an ergogenic aid for high-intensity exercise regardless of the training status of the individual.

Keywords: *beta-alanine, carnosine, buffering, intermittent exercise.*

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1A - Alteração absoluta no desempenho nas condições placebo (PL) e beta-alanina (BA) com os participantes treinados e não treinados agrupados juntos.....	36
Figura 1B - Alteração absoluta no desempenho para os grupos individuais NTPL, TPL, NTBA e TBA.....	36
Figura 2A - Resposta individual do trabalho total realizado, somado das séries 1 a 4, nos grupos suplementados com beta-alanina (NTBA e TBA).....	38
Figura 2B - Resposta individual do trabalho total realizado, somado das séries 1 a 4, nos grupos suplementados com placebo (NTPL e TPL).....	38
Figura 3 - Potência média durante cada série do teste de Wingate pré- (barras brancas) e pós-suplementação (barras pretas) nos grupos NTPL (Painel A), NTBA (Painel B), TPL (Painel C) e TBA (Painel D).....	41
Figura 4 - Potência pico durante cada série do teste de Wingate pré- (barras brancas) e pós-suplementação (barras pretas) nos grupos NTPL (Painel A), NTBA (Painel B), TPL (Painel C) e TBA (Painel D).....	43

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1 - Efeitos Ergogênicos da Suplementação de Beta-alanina.....	25
Tabela 2 - Características dos participantes.....	29
Tabela 3 - Ingestão alimentar dos participantes.....	44

SUMÁRIO

	Página
1. INTRODUÇÃO	13
2. REVISÃO DE LITERATURA	17
2.1. Características da Carnosina.....	16
2.2. Suplementação de Beta-Alanina e Conteúdo Intramuscular de Carnosina	20
2.3. Efeitos da Suplementação de Beta-Alanina sobre o Desempenho Físico.....	22
3. OBJETIVOS	27
4. MATERIAIS E MÉTODOS	28
4.1. Seleção da Amostra.....	28
4.2. Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa.....	29
4.3. Local e Duração do Estudo	30
4.4. Desenho Experimental.....	30
4.5. Avaliação do Desempenho Físico.....	31
4.6. Controle da Dieta e da Atividade Física.....	32
4.7. Análise Estatística	33
5. RESULTADOS	35
5.1. Teste de Wingate	35
5.1.1 Efeitos da Suplementação de Beta-alanina Independentemente do Estado de Treinamento	35
5.1.2 Efeitos da Suplementação de Beta-alanina em Indivíduos Treinados Versus Não treinados.....	39
5.2. Consumo Alimentar.....	33
5.3. Efeitos Colaterais e Eficácia do Desenho Duplo-Cego.....	44
6. DISCUSSÃO	45
7. CONCLUSÃO	51
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	52

1. INTRODUÇÃO

Ao longo dos anos, diversos autores têm investigado o fenômeno da fadiga muscular. Uma definição bastante apropriada foi estabelecida por SAHLIN (1992), segundo a qual a fadiga pode ser definida como a incapacidade do músculo esquelético em manter uma determinada tensão ou de manter o exercício físico a uma dada intensidade. Sabe-se que a fadiga muscular é um dos principais fatores que influenciam o rendimento esportivo (SAHLIN, 1992). Embora sua origem seja provavelmente multifatorial, evidências indicam papel particularmente relevante de alguns eventos no surgimento da fadiga, tais como a inibição de enzimas que participam da transferência de energia, a diminuição da sensibilidade aos íons cálcio (Ca^{2+}) no sítio da troponina, a diminuição da liberação ou da recaptação de Ca^{2+} no retículo sarcoplasmático e a depleção de substratos energéticos (SAHLIN, 1992; ALLEN, LAMB & WESTERBLAD, 2008).

Ainda existe muita controvérsia sobre o papel de cada um dos fatores supracitados no desenvolvimento da fadiga bem como suas respectivas implicações sobre o processo de contração muscular. No entanto, alguns estudos já demonstraram que o grande acúmulo intramuscular de metabólitos, tais como a adenosina difosfato (ADP), o fosfato inorgânico (P_i), o lactato e os íons hidrogênio (H^+), parecem se destacar como potenciais causadores da fadiga muscular durante os exercícios de alta-intensidade (DAWSON, GADIAN & WILKIE, 1978; FITTS, 1994). Apesar de a comunidade científica ter acreditado por muito tempo que o acúmulo de lactato, que ocorre durante atividades intensas, era o principal metabólito causador da fadiga muscular durante este tipo de exercício, hoje se acredita que o lactato não possua qualquer efeito sobre ela, mas que o acúmulo de íons H^+ , gerando uma queda do pH intramuscular (ou seja, uma “acidose” muscular), teria um maior destaque como causa da fadiga durante exercícios intensos.

Diversos estudos *in vitro* já se dedicaram a investigar os possíveis mecanismos pelos quais a acidose muscular poderia prejudicar o desempenho. Dentre eles, destaca-se a competição dos íons H^+ com os íons Ca^{2+} pelo sítio de ligação da troponina, prejudicando a capacidade da maquinaria contrátil de operar efetivamente (DONALDSON, HERMANSEN & BOLLES, 1978; FABIATO &

FABIATO, 1978). Além disso, a queda do pH muscular causada pelos íons H^+ pode levar à inibição da ressíntese de fosforilcreatina (HARRIS, EDWARDS, HULTMAN, NORDESJO, NYLIND & SAHLIN, 1976) e à inibição de enzimas importantes da via glicolítica (SUTTON, JONES & TOEWS, 1981), limitando o processo de produção de energia para a contração muscular.

Apesar dos estudos acima mencionados, alguns grupos de pesquisa tem demonstrado, também em experimentos *in vitro*, que o papel da acidose intramuscular no desenvolvimento da fadiga muscular não é significativa (WESTERBLAD, ALLEN & LANNERGREN, 2002). Divergências à parte, é possível que as condições experimentais observadas nos estudos *in vitro* não sejam semelhantes o suficiente às condições fisiológicas observadas *in vivo*. Corroborando essa hipótese, existem diversas evidências *in vivo* de que a acidose intramuscular é uma das principais causas da fadiga em exercícios de alta intensidade, sendo que as mais importantes provêm de estudos que: 1) induziram alcalose e observaram retardo no aparecimento da fadiga (ARTIOLI, GUALANO, COELHO, BENATTI, GAILEY & LANCHI JR, 2007), 2) aumentaram a capacidade tamponante intracelular e também observaram melhora no desempenho (DERAVE, OZDEMIR, HARRIS, POTTIER, REYNGOUDT, KOPPO, WISE & ACHTEN, 2007) e 3) induziram acidose e verificaram tendência de queda no rendimento (BRIEN & MCKENZIE, 1989). Diante dessa importância da regulação do pH durante o exercício de alta intensidade, estratégias que contribuam para a manutenção do equilíbrio ácido-básico tornam-se potencialmente ergogênicas.

Nesse ponto, a suplementação de beta-alanina parece surgir como uma alternativa interessante, porém pouco estudada. A suplementação com este aminoácido não-proteogênico comprovadamente induz um aumento das concentrações teciduais de carnosina (β -alanil-L-histidina) (HARRIS, TALLON, DUNNETT, BOOBIS, COAKLEY, KIM, FALLOWFIELD, HILL, SALE, & WISE, 2006). A carnosina, por sua vez, é um dipeptídeo encontrado em diversos tecidos excitáveis, tais como o cardíaco e o cerebral, embora seja no tecido muscular, mais especificamente em fibras do tipo II, onde a carnosina pode ser encontrada em maior abundância no corpo humano. Embora ações antioxidantes e anti-glicantes já tenham sido atribuídas a este dipeptídeo, estudos *in vitro* e *in vivo* destacam a manutenção do equilíbrio ácido-básico (isto é, possui ação tamponante intracelular), como a função mais bem documentada da carnosina (SALE, SAUNDERS &

HARRIS, 2010). Consequentemente, um aumento das concentrações desse dipeptídeo induz um aumento da capacidade tamponante das células musculares via esse composto, o que poderia retardar o início da fadiga muscular e teoricamente manter os níveis de performance elevados por mais tempo (ARTIOLI, GUALANO, SMITH, STOUT, & LANCH JR, 2010; DERAIVE, EVERAERT, BEECKMAN & BAGUET, 2010).

Mesmo que o corpo de evidências circunjacentes aos efeitos ergogênicos da suplementação de beta-alanina esteja crescendo, a maioria dos estudos que demonstraram efeitos positivos desta estratégia nutricional sobre o desempenho físico utilizaram voluntários fisicamente ativos ou não treinados. Os estudos investigando os efeitos da suplementação de beta-alanina em atletas treinados são escassos e não tem apresentado resultados animadores; e alguns autores especulam que atletas podem ser menos responsivos à suplementação (BELLINGER, HOWE, SHING & FELL, 2012). DERAIVE, OZDEMIR, HARRIS, POTTIER, REYNGOUDT, KOPPO, WISE & ACHTEN (2007), por exemplo, suplementaram corredores velocistas treinados com 4,8 gramas de beta-alanina por dia, durante 4 semanas, e não observaram qualquer efeito da suplementação sobre o desempenho físico dos atletas numa corrida de 400 metros. Similarmente, o mesmo grupo de pesquisa não observou qualquer melhora significativa no desempenho físico de remadores de elite numa prova de 2000 metros após 7 semanas de suplementação de beta-alanina, com uma dose similar à empregada no estudo anterior (5 gramas por dia) (BAGUET, BOURGOIS, VANHEE, ACHTEN & DERAIVE, 2010). SAUNDERS, SALE, HARRIS & SUNDERLAND (2012) recrutaram jogadores de diversas modalidades esportivas, de elite ou não, para realizar o Teste Loughborough de Deslocamento Intermitente (do inglês "*Loughborough Intermittent Shuttle Test*"), um protocolo designado para simular modalidades intermitentes. Após 4 semanas de intervenção, não foi observado qualquer efeito da suplementação de 6,4 gramas de beta-alanina por dia sobre o desempenho físico dos jogadores. Além disso, BELLINGER, HOWE, SHING & FELL (2012) não observaram qualquer efeito da suplementação de beta-alanina durante 4 semanas sobre o desempenho físico de ciclistas treinados num teste contrarrelógio de 4 minutos de duração.

Há uma série de estudos demonstrando que o treinamento físico de alta intensidade pode modular positivamente a capacidade total de tamponamento

muscular (BELL & WENGER, 1988; WESTON, MYBURGH, LINDSAY, DENNIS, NOAKES & HAWLEY, 1997; EDGE, BISHOP & GOODMAN, 2006a; EDGE, BISHOP & GOODMAN, 2006b; JUEL, 2008). Assim, já que a maior parte dos estudos que recrutaram atletas treinados falhou em demonstrar os efeitos ergogênicos da suplementação de beta-alanina, tem sido argumentado que um potencial fator mascarando o real efeito da suplementação de beta-alanina em atletas treinados seria a elevada capacidade tamponante muscular pré-existente neste perfil de indivíduos, o que poderia minimizar o efeito de um conteúdo muscular aumentado de carnosina via suplementação de beta-alanina (BELLINGER, HOWE, SHING & FELL, 2012). Embora a população atlética provavelmente seja a mais interessada nos efeitos ergogênicos da beta-alanina, ainda é incerto até que ponto estes indivíduos altamente treinados podem se beneficiar da suplementação. Nenhum estudo até o momento comparou diretamente se atletas respondem de forma diferente à suplementação de beta-alanina em comparação a indivíduos não treinados recreacionalmente ativos.

Portanto, de forma a reunir conhecimento sobre as potenciais respostas diferenciais de indivíduos treinados e não treinados à suplementação de beta-alanina, o objetivo deste estudo foi investigar se o estado de treinamento pode influenciar o efeito ergogênico da suplementação de beta-alanina sobre o desempenho físico intermitente de membros inferiores, comparando participantes treinados e não treinados em ciclismo.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 CARACTERÍSTICAS DA CARNOSINA

Carnosina (β -alanyl-L-Histidina) é um dipeptídeo citoplasmático encontrado em diversos tecidos, tais como o cardíaco e o cerebral. Porém, é no músculo esquelético de animais vertebrados e invertebrados em que ele está presente em altas concentrações. Várias ações fisiológicas têm sido associadas à carnosina no músculo, tais como antioxidante (BOLDYREV, KOLDOBSKI, KURELLA, MALTSEVA & STVOLINSKI, 1993), reguladora do cálcio e do acoplamento excitação-contração (LAMONT & MILLER, 1992), protetora de proteínas contra glicação agindo como um peptídeo-sacrifício (HIPKISS, MICHAELIS & SYRRIS, 1995) e na prevenção de ligações proteína-proteína reagindo com grupos proteína-carbonil (HIPKISS, 2000). Porém, sua função mais bem atribuída e indiscutível é a de tamponamento do pH, devido à sua constante de dissociação de ácidos (chamada de pKa) possuir um valor de 6.83, o que a torna um excelente tampão dentro do alcance fisiológico do pH (ABE, 2000).

A carnosina é sintetizada primordialmente no músculo esquelético (e em outros tecidos, como o cardíaco e o cerebral, os quais não serão aqui contemplados) a partir dos aminoácidos L-histidina e beta-alanina, em uma reação catalisada pela enzima carnosina-sintase. Encontrada em alguns tipos de carne, a carnosina pode ser obtida pela dieta, mas não é absorvida em sua forma íntegra para a corrente sangüínea, já que a enzima carnosinase, presente no lúmen intestinal e no plasma sanguíneo, rapidamente hidrolisa o dipeptídeo (ASATOOR, BANDO, LANT, MILNE & NAVAB, 1970).

Segundo BAUER & SCHULZ (1994), o músculo esquelético é capaz apenas de sintetizar a carnosina, ou seja, o mesmo não é capaz de captá-la do meio extracelular. O músculo esquelético não produz nenhum dos aminoácidos

precursores da carnosina, já que a histidina é um aminoácido essencial e a beta-alanina tem sua síntese endógena restrita aos hepatócitos (MATHEWS & TRAUT, 1987). Dessa forma, a síntese de carnosina no músculo esquelético é dependente da captação desses aminoácidos pelas células musculares. Uma vez captados e transportados para dentro da célula muscular, é importante ressaltar que a enzima carnosina-sintase exibe afinidade muito maior para a beta-alanina. Prova disto é a sua constante de equilíbrio (chamada de K_m), a qual possui um valor aproximado de 16,8 μM para a histidina (HORINISHI, GRILLO & MARGOLIS, 1978) e de 1 a 2,3 mM para a beta-alanina (NG & MARSHALL, 1978). Além disto, as concentrações plasmáticas e intramusculares de histidina são substancialmente superiores às concentrações de beta-alanina (DUNNETT & HARRIS, 1995; HARRIS, DUNNETT & GREENHAFF, 1998). Consequentemente, tem sido proposto que o ponto limitante para a síntese de carnosina no músculo esquelético parece ser a disponibilidade de beta-alanina para a célula muscular.

A concentração de carnosina é particularmente alta no interior da célula muscular de mamíferos, aves e peixes com capacidade desempenhar atividades de curta duração e alta intensidade (sejam elas para caça de presas ou fuga de predadores), e ainda maior em espécies aquáticas, principalmente em baleias (ABE, 2000). Adicionalmente, a concentração de carnosina é tipicamente maior em fibras musculares do tipo II se comparadas às fibras musculares tipo I. No músculo vasto lateral humano, por exemplo, a concentração de carnosina pode variar de $10,5 \pm 7,6$ mmol/kg de músculo seco em fibras do tipo I e $23,2 \pm 17,8$ mmol/kg de músculo seco em fibras do tipo II (HARRIS, TALLON, DUNNETT, BOOBIS, COAKLEY, KIM, FALLOWFIELD, HILL, SALE, & WISE, 2006). Uma distribuição preferencial similar da carnosina para fibras do tipo II já foi observada no músculo esquelético do cavalo e do camelo (DUNNETT & HARRIS, 1995) onde a concentração deste dipeptídeo pode variar de $27,27 \pm 5,89$ mmol/kg de músculo seco em fibras do tipo I até $89,69 \pm 10,27$ mmol/kg de músculo seco em fibras do tipo II. As altas concentrações de carnosina em fibras do tipo II, e particularmente naqueles animais com capacidade para esforços de alta intensidade, são consistentes com as ações de tamponamento do pH e regulador do acoplamento excitação-contração, mas não com as outras ações sugeridas à carnosina. Apesar disto, não existem estudos na literatura que tenham avaliado diretamente o papel tamponante da carnosina, verificando

alterações do pH muscular em concentrações aumentadas ou diminuídas deste dipeptídeo.

As elevadas concentrações de carnosina observadas no músculo esquelético de animais dependentes de intensos esforços para a sua sobrevivência sugere que o treinamento físico poderia modular positivamente as concentrações intramusculares deste dipeptídeo. Inclusive, já foi demonstrado por meio de estudos transversais que atletas bem treinados engajados em atividades de alta intensidade, como remadores e corredores velocistas, possuem maior conteúdo muscular de carnosina comparados a corredores maratonistas e indivíduos não treinados (PARKHOUSE, MCKENZIE, HOCHACHKA & OVALLE, 1985). Ainda neste sentido, foi demonstrado que fisiculturistas possuem algumas das maiores concentrações de carnosina muscular observadas na população humana (TALLON, HARRIS, BOOBIS, FALLOWFIELD, WISE, 2005). Tais estudos sugerem que o treinamento físico a longo prazo seja capaz de promover aumento do conteúdo intramuscular de carnosina. Entretanto, os poucos estudos longitudinais investigando esta hipótese têm obtido dificuldade em prová-la. SUZUKI, ITO & TAKAHASHI (2004), por exemplo, demonstraram aumento de cerca de 100% no conteúdo intramuscular de carnosina em homens sedentários após 8 semanas de treinamento de alta intensidade (3 séries de Wingate) realizado uma vez por semana. Por outro lado, outros 4 estudos existentes na literatura não foram capazes de confirmar tal aumento. KENDRICK, HARRIS, KIM, KIM, DANG, LAM, BUI, SMITH & WISE (2008), por exemplo, não observaram qualquer diferença no conteúdo muscular de carnosina após 10 semanas de treinamento de força, realizado 4 vezes por semana (das quais, 2 sessões na semana se dedicaram ao treino da musculatura avaliada para o conteúdo de carnosina). Semelhantemente, KENDRICK, KIM, HARRIS, KIM, DANG, LAM, BUI & WISE (2009) e MANNION, JAKEMAN & WILLAN (1985) não observaram um aumento muscular de carnosina após 4 e 16 semanas, respectivamente, de treinamento com exercícios isocinéticos realizados 3 vezes por semana. Por fim, BAGUET, EVERAERT, DE NAEYER, REYNGOUDT, STEGEN, BEECKMAN, ACHTEN, VANHEE, VOLKAERT, PETROVIC, TAES & DERAIVE (2011) não observaram concentrações aumentadas de carnosina no músculo após 5 semanas de treinamento físico, utilizando o mesmo protocolo de SUZUKI, ITO & TAKAHASHI (2004), lançando dúvida aos resultados apresentados por esse autores anteriormente. Analisando em conjunto esses dados conflitantes, não se pode

afirmar se as concentrações aumentadas de carnosina observadas no músculo esquelético de animais e humanos engajados em atividades intensas é ou não uma adaptação ao treinamento físico intenso ou um resultado de um aumentado consumo de carnosina na dieta, e certamente esse é um assunto que merece mais investigações. Ainda assim, os dados sugerem que, se por um lado o treinamento em curto prazo parece exercer pouco ou nenhum efeito sobre a carnosina intramuscular, em longo prazo é possível que ele promova adaptações no sentido de aumentar seu conteúdo.

2.2 SUPLEMENTAÇÃO DE BETA-ALANINA E CONTEÚDO INTRAMUSCULAR DE CARNOSINA

Conforme mencionado anteriormente, a carnosina é sintetizada no músculo esquelético e em outros tecidos a partir de seus aminoácidos precursores, a beta-alanina e a histidina, por meio de uma reação catalisada pela enzima carnosina-sintase. Conforme destacamos, a carnosina sintase possui uma afinidade maior para a histidina do que para a beta-alanina. Adicionalmente, a concentração de histidina tanto no meio extra quanto no meio intracelular é substancialmente maior do que a de beta-alanina. Com isso, fica evidente que a síntese de carnosina *in vivo* é, em condições fisiológicas, limitada pela disponibilidade do aminoácido beta-alanina (HARRIS, TALLON, DUNNETT, BOOBIS, COAKLEY, KIM, FALLOWFIELD, HILL, SALE, & WISE, 2005).

Em vista disso, HARRIS, TALLON, DUNNETT, BOOBIS, COAKLEY, KIM, FALLOWFIELD, HILL, SALE, & WISE (2005) conduziram um elegante estudo de modo a investigar se a suplementação de beta-alanina seria capaz de aumentar o conteúdo intramuscular de carnosina. Os autores testaram três diferentes doses diárias: 40, 20 e 10 miligramas por quilograma de peso corporal (mg/kg). Foi verificado que todas as doses induziram um aumento significativo da concentração muscular de carnosina. Curiosamente, foi observado que a dose maior resulta em um elevado pico de beta-alanina no sangue, o qual está relacionado com sintomas

intensos de parestesia (sintoma neurológico caracterizado pela sensação de “formigamento” da pele), que se iniciaram cerca de 20 minutos após a ingestão e duraram cerca de 1 hora. A dose intermediária, de 20 mg/kg, também levou a sintomas semelhantes, porém muito menos intensos e até certo ponto suportáveis. Paralelamente, o pico sanguíneo de beta-alanina em resposta à dose intermediária também foi moderado. Já a dose de 10 mg/kg produziu sintomas semelhantes, mas em intensidade muito menor. Essa dose produziu apenas um discreto pico de beta-alanina no sangue. Esses dados indicam que a dose única máxima tolerável é de 10 mg/kg. O tempo para atingir o pico sanguíneo de beta-alanina é de aproximadamente 30 a 40 minutos e a meia-vida de desaparecimento ocorre cerca de 25 minutos após o pico. Utilizando-se a dose única máxima tolerável de 10 mg/kg, os mesmos autores demonstraram que os níveis sanguíneos de beta-alanina retornam ao normal cerca de 3 horas após a ingestão. Isso significa que, para se obter uma ingestão diária mais elevada de beta-alanina, pode-se repetir diversas vezes a ingestão de 10 mg/kg, desde que haja intervalo mínimo de 3 horas entre as doses (HARRIS, TALLON, DUNNETT, BOOBIS, COAKLEY, KIM, FALLOWFIELD, HILL, SALE, & WISE, 2005).

Em seguida, os autores propuseram e investigaram diferentes protocolos de suplementação crônica de beta-alanina, totalizando: 1) 3.2 gramas por dia ou o equivalente a 4 doses diárias de 10 mg/kg e 2) 4 gramas por dia na primeira semana seguido por 6.4 gramas por dia nas semanas seguintes ou o equivalente a 8 doses diárias de 10 mg/kg. Os resultados mostraram que ambos protocolos foram efetivos no aumento da concentração intramuscular de carnosina, mas o esquema de maior dose de diária tendeu a ser mais efetivo do que o de menor dose total diária (aumento de aproximadamente 60% e 40%, respectivamente, no conteúdo muscular de carnosina) (HARRIS, TALLON, DUNNETT, BOOBIS, COAKLEY, KIM, FALLOWFIELD, HILL, SALE, & WISE, 2006).

Antes da suplementação de beta-alanina, estima-se que a contribuição da carnosina para a capacidade tamponante total do músculo esquelético seja de aproximadamente 10% (HARRIS, TALLON, DUNNETT, BOOBIS, COAKLEY, KIM, FALLOWFIELD, HILL, SALE, & WISE, 2006). O aumento relatado de cerca de 60% no conteúdo muscular de carnosina pode elevar essa contribuição para cerca de ~15%. Considerando-se apenas as fibras do tipo II, que são justamente as que apresentam maior conteúdo de carnosina e as que mais estão sujeitas à acidose, a

contribuição estimada sobe para cerca de 25% ou mais. Isso certamente pode ser decisivo em modalidades esportivas cujo desempenho é limitado pela queda do pH intramuscular. Apesar das fibras do tipo II sempre exibirem maior quantidade de carnosina, a suplementação de beta-alanina eleva, em magnitude semelhante, o conteúdo de carnosina nos dois tipos de fibra (HARRIS, TALLON, DUNNETT, BOOBIS, COAKLEY, KIM, FALLOWFIELD, HILL, SALE, & WISE, 2006; HILL, HARRIS, KIM, HARRIS, SALE, BOOBIS, KIM & WISE, 2007), o que sugere que o mecanismo de captação é igualmente eficiente nos dois tipos de fibra.

2.3 EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE BETA-ALANINA SOBRE O DESEMPENHO FÍSICO

Baseado no fato de que 1) a carnosina pode ser um importante tampão intracelular; 2) em evidências de que animais e humanos engajados em esforços intensos e explosivos possuem maior conteúdo intramuscular de carnosina do que aqueles com melhor desempenho em esforços aeróbios; 3) e que a suplementação de beta-alanina é um meio eficaz de aumentar o conteúdo muscular de carnosina, diversos estudos recentes e revisões de literatura (ARTIOLI, GUALANO, SMITH, STOUT & LANCH JR, 2010; DERAIVE, EVERAERT, BEECKMAN & BAGUET, 2010) têm sido conduzidos com o propósito de se explorar o potencial efeito ergogênico da suplementação crônica de beta-alanina sobre o desempenho físico, com doses variando de 2 até 6,4 gramas de beta-alanina por dia e duração de 3 até 13 semanas. Um resumo dos estudos publicados até o momento na literatura sobre este tema pode ser encontrado na Tabela 1.

Em um dos primeiros estudos, HILL, HARRIS, KIM, HARRIS, SALE, BOOBIS, KIM & WISE (2007) suplementaram 13 homens fisicamente ativos com 6,4 gramas de beta-alanina por dia, durante 10 semanas. O trabalho total realizado durante um teste cíclico a 110% $W_{máx}$ (duração aproximada de 2.5 minutos) aumentou significativamente após 4 e 10 semanas de suplementação (13% e 16.2%, respectivamente). Semelhantemente, STOUT, CRAMER, ZOELLER, TOROK,

COSTA, HOFFMAN, HARRIS & O'KROY (2007) já encontraram aumentos significantes no limiar ventilatório (+ 13.9%) e tempo até a exaustão (+ 2.5%) de mulheres destreinadas após 28 dias de suplementação com dose similar de beta-alanina, embora o $VO_{2máx}$ não tenha se alterado durante um teste cíclico incremental. Ainda, já foi demonstrado pelo mesmo grupo que a capacidade física de trabalho no limiar da fadiga aumentou significativamente após suplementação de beta-alanina em indivíduos jovens (STOUT, CRAMER, MIELKE, O'KROY, TOROK, ZOELLER, 2006) e idosos (STOUT, GRAVES, SMITH, HARTMAN, CRAMER, BECK & HARRIS, 2008). SALE, HILL, PONTE & HARRIS (2012) também relataram um efeito positivo da suplementação de beta-alanina ao observarem uma melhora de 13-14% na resistência isométrica de homens não treinados, a 45-50% da contração voluntária máxima dos extensores do joelho.

De uma maneira geral, os estudos tem demonstrado que a suplementação de beta-alanina é uma estratégia nutricional efetiva na melhora do desempenho e capacidade física de indivíduos não treinados. Entretanto, no que diz respeito aos estudos que investigaram a eficácia ergogênica desta estratégia nutricional em indivíduos bem treinados e/ou em testes específicos de campo, os resultados são controversos. Em corredores velocistas treinados na distância de 400 metros, 4 semanas de suplementação de beta-alanina (4,8 g/dia) não melhoraram o tempo de teste na prova 400-m comparados ao grupo placebo, apesar de expressivo aumento no conteúdo intramuscular de carnosina (DERAVE, OZDEMIR, HARRIS, POTTIER, REYNGOUDT, KOPPO, WISE & ACHTEN, 2007). No entanto, a suplementação aumentou significativamente o torque extensor do joelho durante repetidas extensões de joelho (5 séries de 30 repetições, com 1 minuto de intervalo entre as séries), mais especificamente durante as últimas 2 séries de exercício. Similarmente, este mesmo grupo de pesquisa não observou quaisquer efeitos da suplementação de beta-alanina sobre o desempenho físico de remadores bem treinados na prova de 2000 metros (BAGUET, BOURGOIS, VANHEE, ACHTEN & DERAIVE, 2010). Além disso, SAUNDERS, SALE, HARRIS & SUNDERLAND (2012) não relataram qualquer melhora de jogadores treinados em modalidades esportivas no LIST, teste que simula o desempenho em modalidades intermitentes. Por fim, BELLINGER, HOWE, SHING & FELL (2012) não observaram qualquer efeito da suplementação de beta-alanina sobre o desempenho físico de ciclistas treinados num teste contrarrelógio de 4 minutos de duração.

Por outro lado, VAN THIENEN, VAN PROEYEN, VANDEN EYNDE, PUYPE, LEFERE & HESPEL (2009) demonstraram que a suplementação com beta-alanina em ciclistas moderadamente treinados melhorou significativamente a potência pico e potência média num “*sprint*” final de 30 segundos ao final de um teste cíclico de 2 horas simulando uma competição. Adicionalmente, nosso grupo de pesquisa recentemente mostrou que nadadores de nível estadual e nacional também podem melhorar o desempenho físico nas provas de 100 e 200 metros livres com esta estratégia nutricional (PAINELLI, ROSCHEL, DE JESUS, SALE, HARRIS, SOLIS, BENATTI, GUALANO, LANCH A JR & ARTIOLI, 2013). Embora seja difícil explicar a controvérsia existente na literatura com relação aos efeitos da suplementação de beta-alanina sobre o desempenho físico de atletas treinados, um dos possíveis motivos para a mesma pode estar na elevada capacidade tamponante pré-existente nestes indivíduos, mascarando qualquer efeito ergogênico de um conteúdo aumentado de carnosina muscular via suplementação de beta-alanina. Apesar desta possibilidade, conforme demonstrado por alguns estudos, o desempenho físico permaneceu inalterado em algumas tarefas específicas (corrida de 400 metros; 2000 metros no remo, por exemplo), sugerindo que a suplementação de beta-alanina parece ter uma “janela temporal de ação ergogênica”.

No que diz respeito ao efeito da suplementação de beta-alanina sobre o desempenho de força, não é possível concluir sobre a eficácia da suplementação devido ao baixo número de estudos na literatura acerca deste tema, sendo estes estudos realizados com diferentes dosagens, perfil de participantes e desenhos experimentais. No entanto, todos os estudos até então conduzidos deixam a entender que a suplementação de beta-alanina não aumenta a força máxima dinâmica (KENDRICK, HARRIS, KIM, KIM, DANG, LAM, BUI, SMITH & WISE, 2008) (avaliada pelo teste de uma repetição máxima – 1RM). Mesmo não aumentando a força máxima, a suplementação de beta-alanina mostrou-se capaz de melhorar a qualidade do treino de força (HOFFMAN, RATAMESS, ROSS, KANG, MAGRELLI, NEESE, FAIGENBAUM & WISE, 2008; HOFFMAN, RATAMESS, FAIGENBAUM, ROSS, KANG, STOUT & WISE, 2008), permitindo que os atletas realizassem um treino com maior volume, sendo esse definido pelo produto das repetições pelas cargas utilizadas.

Tabela 1 – Efeitos Ergogênicos da Suplementação com Beta-Alanina

Referência	Tipo de Atividade / Protocolo de Exercício	Protocolo de Suplementação	Perfil da Amostra	Resultados de Desempenho
SALE et al	Extensão de Joelho Isométrica a 45% CVM até a exaustão	6.4g/dia - 4 semanas	Homens não treinados	+ 13-14 % Resistência Isométrica
DERAVE et al	5 séries de 30 extensões de joelho máximas / Extensão de Joelho Isométrica 45% CVM até a exaustão / Corrida de 400-m	4.8g/dia – 4 semanas	Corredores treinados em 400-m	↑ resistência isométrica / ↔ tempo nos 400-m
HILL et al	Teste Cíclico a 110% $W_{\text{máx}}$	6.4g/dia – 4 a 10 semanas	Homens não treinados	+ 13 a 16.2% TWD
ZOELLER et al	Teste Ergométrico Máximo	3.2g/dia - 4 semanas	Homens não treinados	+ 7 % VT
STOUT et al	Teste Ergométrico Máximo	3.2g/dia - 4 semanas	Homens não treinados	+ 14,5 % PWC_{ft}
STOUT et al	Teste Ergométrico Máximo	6.4g/dia – 4 semanas	Mulheres não treinadas	+ 2,5 % TTE / + 13,9 % VT / + 12,6 % PWC_{ft}
STOUT et al	Teste Ergométrico Máximo	2.4g/dia – 12 semanas	Homens e Mulheres Idosos	+ 28,5 % PWC_{ft}
HOFFMAN et al	Teste de Wingate / "line drill" / volume de treino / fadiga	4.5g/dia - 3 semanas	Jogadores de Futebol Americano	↓ Fadiga / + 9,2 % volume de treino
VAN THIENEN et al	30 segundos de esforço máximo ao final de uma corrida simulada	2-4g/dia – 8 semanas	Ciclistas moderadamente treinados	+ 11,4 % W Pico / + 5,0 % W Média
BAGUET et al	Prova de 2000 metros	5g/dia – 7 semanas	Remadores de elite	↔ tempo na prova de 2000 metros
SAUNDERS et al	66 tiros, com 6 segundos de duração cada	6.4g/dia – 4 semanas	Jogadores de modalidades esportivas	↔ tempo dos tiros
BELLINGER et al	Teste contrarrelógio de 4 minutos	65mg/kg peso corporal – 4 semanas	Ciclistas altamente treinados	↔ W Média / ↔ TWD

CVM – Contração Voluntária Máxima; TWD – “Total Work Done” (Trabalho Total Realizado); PWC_{ft} – “Physical Working Capacity at Fatigue Threshold” (Capacidade Física de Trabalho no Limiar da Fadiga); $W_{\text{máx}}$ – Potência Máxima; VT – “Ventilatory Threshold” (Limiar Ventilatório)

Em virtude do que foi mencionado, os estudos até agora conduzidos na literatura indicam que um alto conteúdo de carnosina intramuscular proveniente da suplementação de beta-alanina pode atrasar a fadiga muscular durante exercícios de alta-intensidade, nos quais a redução do pH intramuscular é bastante acentuada e verdadeiramente limitante para o

desempenho. Apesar disso, os poucos estudos na literatura investigando os efeitos desta estratégia sobre o desempenho físico de atletas altamente treinados são controversos. As razões para isso incluem uma elevada capacidade tamponante pré-existente nestes atletas e o protocolo de teste físico utilizado nos estudos.

3. OBJETIVO

Investigar a influência do estado de treinamento sobre o desempenho físico intermitente de membros inferiores em resposta à suplementação de beta-alanina, comparando homens treinados e não treinados em ciclismo.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 – SELEÇÃO DA AMOSTRA

Para o presente estudo foram recrutados 40 sujeitos homens, saudáveis, não tabagistas, sem qualquer doença crônico-degenerativa ou problema que acometesse o aparelho locomotor. Os 40 voluntários foram divididos em 2 grupos de acordo com seu estado de treinamento (ciclistas treinados em resistência aeróbia: $n = 20$; indivíduos recreacionalmente ativos: $n = 20$). Para ser incluído no perfil recreacionalmente ativo, nenhum dos participantes poderia estar engajado em programas regulares de treino ou qualquer tipo de competição. Para ser incluído no perfil treinado, os participantes deveriam ter experiência prévia em ciclismo e índices de competição. Os participantes de ambos os perfis foram aleatoriamente designados a grupos suplementados com beta-alanina (BA) ou placebo (PL), pareados pelo trabalho total estimado na sessão de habituação. Um ciclista treinado desistiu de sua participação na pesquisa por conta de uma lesão, o que significa que os dados de 19 ciclistas treinados foram incluídos na análise final. Dentre os ciclistas, 13 atletas estavam engajados em competições de nível nacional, enquanto os 6 atletas restantes estavam participando ativamente de competições de nível estadual na época da coleta de dados. A característica dos participantes, experiência e volume semanal de treino estão apresentados na Tabela 2.

Os participantes foram devidamente informados sobre os riscos e desconforto associados ao estudo antes de passarem por uma avaliação de saúde e assinarem o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. O critério de exclusão para o estudo incluiu 1) estar utilizando ou ter utilizado suplementos contendo creatina nos 3 meses anteriores ao início do estudo; 2) estar utilizando ou ter utilizado beta-alanina nos 6 meses anteriores ao início do estudo; 3) estar utilizando esteroides anabólicos. Também foi solicitado aos participantes que mantivessem seus níveis de atividade

física e consumo alimentar durante o período de estudo. Este pedido foi confirmado verbalmente pelos participantes durante e após o estudo.

Tabela 2: Características dos participantes.

	NTPL	NTBA	TPL	TBA
	(N = 10)	(N = 10)	(N = 9)	(N = 10)
Idade (anos)	26 ± 4	25 ± 4	33 ± 12	32 ± 8
Peso corporal (kg)	72.6 ± 8.8	77.6 ± 9.9	68.9 ± 10.0	71.7 ± 5.5
Altura (metros)	1.75 ± 0.08	1.80 ± 0.07	1.79 ± 0.07	1.82 ± 0.05
Volume				
Semanal de	-	-	230 ± 165	278 ± 94
Treino (km)				
Experiência em	-	-	9 ± 6	8 ± 8
Treino (anos)				

Os dados estão apresentados como média ± desvio-padrão. Não foram observadas diferenças significantes entre os grupos.

4.2 - APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

Todos os procedimentos do presente estudo foram aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Escola de Educação Física e Esporte da Universidade de São Paulo (Protocolo de Pesquisa nº 2011/15).

4.3 – LOCAL E DURAÇÃO DO ESTUDO

Os testes de desempenho físico foram conduzidos no Laboratório de Biomecânica, sob coordenação do professor Julio Cerca Serrão, e no Laboratório de Adaptações Neuromusculares ao Treinamento de força, sob coordenação do professor Hamilton Roschel, ambos na Escola de Educação Física e Esporte da Universidade de São Paulo (EEFE-USP). O tratamento e a análise dos dados coletados foi realizado no Laboratório de Nutrição e Metabolismo Aplicados à Atividade Motora da EEFE-USP, sob coordenação dos professores Antonio Herbert Lancha Junior e Bruno Gualano.

4.4 – DESENHO EXPERIMENTAL

Foi conduzido um estudo randomizado, duplo-cego, controlado por placebo. Os participantes compareceram ao laboratório em 3 ocasiões diferentes. A primeira visita foi um protocolo de habituação, enquanto as duas visitas restantes foram utilizadas para a conclusão dos testes principais. Estas duas sessões experimentais foram realizadas antes e após quatro semanas de suplementação de beta-alanina ou placebo. Para tanto, o estudo consistiu de quatro condições experimentais: treinado + beta-alanina (TBA; n = 10), treinado + placebo (TPL; n = 09), não treinado + beta-alanina (NTBA; n = 10), não treinado + placebo (NTPL; n = 10).

Os grupos suplementados com beta-alanina (NTBA e TBA) receberam 6,4 gramas de beta-alanina por dia (2 doses de 800 miligramas, em cápsulas gelatinosas, ingeridas 4 vezes ao dia, com intervalos de 3 a 4 horas entre as ingestões) (CarnoSyn™, Natural Alternatives International, San Marcos, California, EUA) durante 4 semanas. Estudos anteriores já demonstraram que tal procedimento aumenta significativamente as concentrações intramusculares de carnosina em aproximadamente 60% (HARRIS, TALLON, DUNNETT, BOOBIS, COAKLEY, KIM, FALLOWFIELD, HILL, SALE, & WISE, 2006). Os grupos suplementados com

placebo (NTPL e TPL) receberam a mesma quantidade exata de dextrose (Ethika Inc.TM, São Paulo, Brasil), entregue em cápsulas de mesmo tamanho e cor das cápsulas de beta-alanina. Foi adicionada carboximetilcelulose nas cápsulas de beta-alanina de forma a retardar a absorção deste aminoácido e minimizar a parestesia (único efeito colateral já relatado proveniente da suplementação de beta-alanina) (DECOMBAZ, BEAUMONT, VUICHOD, BOUISSET & STELLINGWERFF, 2011).

Os participantes receberam uma quantidade de suplemento para exatamente 4 semanas de suplementação num recipiente lacrado e sem identificação. A aderência ao protocolo de suplementação foi monitorada verificando o restante das cápsulas no recipiente após o retorno ao laboratório para a realização da sessão pós-suplementação. O grau de aderência relatado em todos os grupos foi de 100%.

4.5 – AVALIAÇÃO DO DESEMPENHO FÍSICO

Para avaliação do desempenho físico em resposta à suplementação de BA todos os sujeitos foram submetidos à 4 séries do teste de Wingate para membros inferiores (INBAR & BAR-OR, 1986), em ergômetro projetado especificamente para este teste (Biotec 2100, Cefise, Nova Odessa, Brasil). Conforme mencionado anteriormente, foi realizada uma sessão de habituação antes das sessões experimentais. A estatura e o peso corporal dos participantes foram mensurados na chegada dos mesmos ao laboratório. A posição dos participantes no ergômetro (altura do banco, altura do guidão, distância do banco ao guidão) foi ajustada na sessão de habituação e mantida ao longo das sessões subsequentes. A sessão pré-suplementação foi realizada pelo menos 1 semana após a realização da habituação. Todas as sessões pós-suplementação foram realizadas exatamente 4 semanas após o início da suplementação. O horário das sessões foi padronizado individualmente.

Durante as sessões, os pés dos participantes foram anexados firmemente e com segurança aos pedais do ergômetro por meio de cintas e grampos. Antes do início do teste, todos os participantes realizaram um aquecimento no aparelho durante 5 minutos, sem carga. Após o término do aquecimento, a carga foi

posicionada no ergômetro e o teste começou imediatamente com os participantes partindo de um início estático. Em cada sessão foram realizadas quatro séries do teste de Wingate, com duração de 30 segundos em cada série, e carga fixa em 5% do peso corporal. As séries foram separadas por períodos de recuperação passiva de 3 minutos, e em cada série foi fornecido encorajamento verbal. Após o término do teste, a carga foi completamente removida do ergômetro e os participantes foram orientados a continuarem pedalando a uma cadência auto-selecionada para facilitar a recuperação. Um sensor acoplado à roda mensurou a velocidade da mesma, de modo que um software (Ergometric 6.0, Cefise, Nova Odessa, Brasil) calculou automaticamente a potência (em Watts, W) produzida a cada segundo. A partir da potência gerada calculou-se o trabalho realizado em cada série (em quilojoules, kJ), bem como o trabalho total (soma do trabalho realizado ao longo das 4 séries) em cada sessão. A perda de desempenho foi avaliada a partir da queda percentual de trabalho realizado da primeira à quarta série. O coeficiente de variação do trabalho total realizado nos grupos treinados e não treinados foi calculado por meio da variação desta variável entre a sessão de habituação e a sessão pré-suplementação. O coeficiente de variação do trabalho total nos grupos treinados e não treinados foi de $1.78 \pm 1.27\%$ e $2.42 \pm 1.86\%$, respectivamente.

4.6 – CONTROLE DA DIETA E DA ATIVIDADE FÍSICA

Foi solicitado aos participantes que se abstivessem de álcool e exercício físico intenso nas 24 horas anteriores às sessões experimentais. Foi orientado aos participantes que chegassem ao laboratório para a realização das sessões pelo menos 2 horas após a última refeição, mas que não fossem à sessão após jejum maior do que 4 horas. O consumo de água foi permitido e à vontade durante a realização das sessões experimentais. Para o controle das variáveis intervenientes consumo alimentar foi avaliado durante o período de suplementação por meio do preenchimento de três recordatórios alimentares das últimas 24 horas. Os recordatórios foram realizados em dias separados, sendo realizados em dois dias durante a semana e um dia do fim de semana, para que a variação que

normalmente ocorre na alimentação aos finais de semana constasse na avaliação. Os recordatórios foram realizados com o auxílio de um álbum de fotos visuais do tamanho real de porções alimentares, e consistiram na listagem dos alimentos e bebidas consumidos nas 24 horas anteriores à avaliação (SCAGLIUSI, POLACOW, ARTIOLI, BENATTI & LANCH JR, 2003).

O consumo energético e de macronutrientes foi analisado através do software Virtual NutriTM (São Paulo, Brasil). A ingestão de beta-alanina a partir de peixes e carnes vermelhas contendo carnosina e seus derivados relacionados foi estimada a partir dos dados de JONES, SMITH & HARRIS (2011).

4.7 – ANÁLISE ESTATÍSTICA

Todos os dados estão apresentados como média $\pm$ desvio-padrão.

Em um primeiro instante, de modo a avaliar os efeitos da suplementação de beta-alanina independentemente do estado de treinamento, os participantes treinados e não treinados suplementados com beta-alanina foram incluídos num único grupo, enquanto os participantes treinados e não treinados suplementados com placebo foram incluídos num outro grupo. Para a comparação do desempenho entre os grupos no período pré-suplementação foi realizado um Teste-T para amostras independentes. Para a comparação do trabalho total entre os grupos, antes e após o período de suplementação, foi conduzido o modelo misto, com "suplemento" e "tempo" como fatores, seguido pela análise de contraste. As variações absolutas no trabalho total (isto é, a diferença entre o trabalho total na sessão pré- e pós-suplementação) também foram comparadas entre os grupos por meio de um Teste-T para amostras independentes.

Posteriormente, de modo a avaliar os efeitos da suplementação de beta-alanina em indivíduos treinados versus não treinados, os participantes foram distribuídos em seus grupos iniciais, e os dados foram reanalisados. Nesse momento, para a comparação das características dos participantes, consumo alimentar e desempenho entre os grupos no período pré-suplementação foi realizada a análise da variância com um fator (do inglês "one-way ANOVA"). A

análise da perda de desempenho no período pré-suplementação, avaliada por meio da queda do trabalho realizado da 1a até a 4a série, também foi conduzida por meio da análise da variância com um fator. Para a comparação do trabalho total entre estes grupos, antes e após o período de suplementação, foi conduzido o modelo misto, com "grupo" e "tempo" como fatores, seguido pela análise de contraste. Para a comparação da potência pico e potência média entre as séries e entre os grupos, antes e após o período de suplementação, foi conduzido o modelo misto, com "grupo", "tempo" e "série" como fatores. As variações absolutas no trabalho total foram comparadas entre os grupos por meio da análise da variância com um fator. Sempre que um valor F significativo foi verificado, um teste *post-hoc* de Tukey foi utilizado para encontrar diferenças específicas. O tamanho do efeito foi calculado por meio do coeficiente de Cohen. O Teste Exato de Fischer foi utilizado para calcular a taxa de participantes que adivinharam corretamente sua alocação nos grupos. A análise dos dados foi conduzida através do software SAS versão 9.3. O nível de significância adotado foi de $p \leq 0.05$.

5. RESULTADOS

5.1 – TESTE DE WINGATE

5.1.1 – EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE BETA-ALANINA INDEPENDENTEMENTE DO ESTADO DE TREINAMENTO

Não foram verificadas diferenças significantes no trabalho total realizado entre os grupos suplementados com beta-alanina e placebo antes do início da suplementação (PL: 50773 ± 7349 kJ; BA: 52538 ± 6283 kJ; $P = 0.44$). A análise pelo modelo misto revelou um significativo efeito de interação Suplemento x Tempo sobre o trabalho total realizado ($F = 16.48$; $P = 0.0002$). Além disso, a análise por contraste revelou um significativo efeito intra-grupo para a beta-alanina ($P = 0.0004$), demonstrando um aumento do trabalho total realizado por este grupo (Figura 1A), e uma diminuição do trabalho total realizado pelo grupo placebo com tendência a ser significativa ($P = 0.07$; Figura 1A).

Figura 1A: Alteração absoluta no desempenho nas condições placebo (PL) e beta-alanina (BA) com os participantes treinados e não treinados agrupados juntos; Figura 1B: Alteração absoluta no desempenho para os grupos individuais NTPL, TPL, NTBA e TBA. Legenda: TTR = Trabalho Total Realizado; NTPL = não treinado + placebo; TPL = treinado + placebo; NTBA = não treinado + beta-alanina; TBA = treinado + beta-alanina. O símbolo * indica efeito intra-grupo estatisticamente significativo ($P = 0.0004$). O símbolo # indica efeito intra-grupo estatisticamente significativo ao nível $P \leq 0.05$. Efeito do Tamanho: NTPL - 0.2; TPL - 0.03; NTBA - 0.2; TBA - 0.4.

No total, 17 de 20 participantes suplementados com beta-alanina melhoraram o trabalho total realizado após o período de suplementação; 8 de 10 participantes tiveram seu desempenho melhorado no grupo NTBA, enquanto 9 de 10 participantes no grupo TBA apresentaram um melhor desempenho (Figura 2A). Contrariamente,

10 de 19 participantes suplementados com PL melhoraram o trabalho total realizado após o período de suplementação; 5 de 10 participantes tiveram seu desempenho melhorado no grupo NTPL, enquanto 5 de 9 participantes no grupo TPL apresentaram um melhor desempenho (Figura 2B).

Figura 2A: Resposta individual do trabalho total realizado, somado das séries 1 a 4, nos grupos suplementados com beta-alanina (NTBA e TBA); Figura 2B: Resposta individual do trabalho total realizado, somado das séries 1 a 4, nos grupos suplementados com placebo (NTPL e TPL). Legenda: NTPL = não treinado + placebo; TPL = treinado + placebo; NTBA = não treinado + beta-alanina; TBA = treinado + beta-alanina. As linhas pretas contínuas representam os participantes que tiveram o trabalho total aumentado do período pré-suplementação (PRE) para o período pós-suplementação (POS), enquanto as linhas pretas seccionadas representam os participantes que tiveram o trabalho total diminuído do PRE para o POS.

5.1.2 – EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE BETA-ALANINA EM INDIVÍDUOS TREINADOS VERSUS NÃO TREINADOS

Antes do início da suplementação, a análise da variância com um fator revelou uma significativa queda no trabalho realizado da 1^a a 4^a série do teste de Wingate para todos os grupos experimentais. Especificamente, esta queda foi de $32,3 \pm 6,6\%$ e $33,1 \pm 8,5\%$ para os grupos NTPL e NTBA, respectivamente, sem diferença significativa entre estes dois grupos ($P > 0.05$). Para o grupo de atletas treinados, antes do protocolo de suplementação, a perda de desempenho da 1^a a 4^a série do teste de Wingate foi de $11,6 \pm 7,9\%$ e $12,3 \pm 5,0\%$ nos grupos TPL e TBA, respectivamente, não havendo diferença significativa entre estes dois grupos ($P > 0.05$). A análise da variância com um fator também revelou que a perda de desempenho nos grupos NTPL e NTBA foi significativamente quando comparada aos grupos TPL e TBA ($P < 0.05$).

Não foram observadas diferenças estatisticamente significantes no trabalho total entre os grupos não treinados (NTPL: 47913 ± 5313 kJ e NTBA: 50274 ± 6765 kJ; $P = 0.43$) e treinados (TPL: 53951 ± 8258 kJ e TBA: 54802 ± 5119 kJ; $P = 0.78$) antes do início da suplementação. A análise pelo modelo misto revelou um significativo efeito de interação Grupo x Tempo sobre o trabalho total realizado ($F = 6.31$; $P = 0.0016$). A análise por contraste revelou um significativo efeito intra-grupo para ambos os grupos suplementados com beta-alanina (NTBA: $+1349 \pm 1411$ kJ, $P = 0.03$; e TBA: $+1978 \pm 1508$ kJ, $P = 0.002$; Figura 1B). A análise por contraste também revelou um significativo efeito intra-grupo para a condição NTPL, onde foi observada uma diminuição do trabalho total realizado por este grupo (-1385 ± 2815 kJ, $P = 0.03$). O trabalho total não sofreu alterações estatisticamente significantes no grupo TPL (-219 ± 1507 kJ, $P = 0.73$) (Figura 1B).

A potência média diminuiu significativamente para todos os grupos em cada série subsequente do teste de Wingate durante o período pré-suplementação (Figura 3). Foi observado um significativo efeito de interação sobre a potência média (Grupo x Tempo x Série, $F = 4.89$; $P < 0.0001$), indicando que ambos os grupos

suplementados com beta-alanina (isto é, NTBA e TBA) foram capazes de manter a potência média da 3ª para a 4ª série no período pós-suplementação (ambos $P > 0.05$). Comparada ao teste pré-suplementação, a potência média no teste pós-suplementação foi maior na 4ª série do grupo NTBA ($P = 0.0004$), e maior na 1ª, 2ª e 4ª séries do grupo TBA (todas ao nível $P \leq 0.05$, Figura 3).

Figura 3 - Potência média durante cada série do teste de Wingate pré- (barras brancas) e pós-suplementação (barras pretas) nos grupos NTPL (Painel A), NTBA (Painel B), TPL (Painel C) e TBA (Painel D). Legenda: O símbolo * significa diferença estatisticamente significativa em relação à série anterior ao nível $P \leq 0.05$; O símbolo # significa diferença estatisticamente significativa em relação ao período pré-suplementação na mesma série ao nível $P \leq 0.05$.

Durante o teste pré-suplementação, ambos os grupos não treinados (isto é, NTPL e NTBA) apresentaram significativa redução na potência pico em cada série subsequente (todas ao nível $P \leq 0.05$). Contrariamente, ambos os grupos treinados foram capazes de manter a potência pico ao longo das séries no período pré-suplementação ($P > 0.05$). Foi observado um significativo efeito de interação sobre a potência pico (Grupo x Tempo x Série, $F = 2.70$; $P = 0.003$), com valores aumentados apresentados na 4ª série do teste pós-suplementação do grupo NTBA

($P = 0.004$); e uma tendência de valores aumentados na 2ª série do teste pós-suplementação do grupo TBA ($P = 0.08$) (Figura 4).

Figura 4 - Potência pico durante cada série do teste de Wingate pré- (barras brancas) e pós-suplementação (barras pretas) nos grupos NTPL (Painel A), NTBA (Painel B), TPL (Painel C) e TBA (Painel D). Legenda: O símbolo * significa diferença estatisticamente significativa em relação à série anterior ao nível $P \leq 0.05$; O símbolo # significa diferença estatisticamente significativa em relação ao período pré-suplementação na mesma série ao nível $P \leq 0.05$; O símbolo \$ significa tendência de diferença estatisticamente significativa em relação ao período pré-suplementação na mesma série ao nível $P = 0.08$.

5.2 – CONSUMO ALIMENTAR

A análise da variância com um fator não revelou diferenças estatisticamente significantes no consumo alimentar entre os grupos (todos $P > 0.05$) (Tabela 3).

Tabela 3: Ingestão alimentar dos participantes.

	NTPL	NTBA	TPL	TBA
	(N = 10)	(N = 10)	(N = 9)	(N = 10)
Energia (Kcal)	2747 ± 661	3364 ± 662	3181 ± 430	2511 ± 769
Carboidrato (g)	342 ± 96	448 ± 86	364 ± 50	304 ± 64
Proteína (g)	134 ± 37	150 ± 39	140 ± 42	111 ± 39
Gordura (g)	94 ± 35	108 ± 47	129 ± 23	95 ± 52
Beta-alanina (mg)	383 ± 191	397 ± 192	446 ± 328	364 ± 283

Os dados estão apresentados como média ± desvio-padrão. Não foram observadas diferenças significantes entre os grupos.

5.3 – EFEITOS COLATERAIS E EFICÁCIA DO DESENHO DUPLO-CEGO

Dos 20 participantes que foram suplementados com beta-alanina, somente 4 foram capazes de adivinhar corretamente o que estavam ingerindo (Teste Exato de Fischer: $P = 0.1$). Dos 19 participantes que foram suplementados com dextrose, somente 9 foram capazes de adivinhar corretamente o que estavam ingerindo (Teste Exato de Fischer: $P = 0.33$). Três participantes que foram suplementados com beta-alanina relataram suave parestesia e foram capazes de identificar corretamente o suplemento que estavam ingerindo. Nós reanalisamos os dados sem estes três participantes e os resultados permaneceram similares, sem diferença significativa nos resultados gerais (como tal, estes dados não estão apresentados). Não foram relatados efeitos colaterais relacionados à ingestão de dextrose.

6. DISCUSSÃO

Devido à possibilidade de que uma elevada capacidade tamponante muscular pré-existente em atletas bem treinados pudesse ser um importante fator explicando a falta de efeitos ergogênicos da suplementação de beta-alanina nesta população em estudos anteriores, nós optamos, pela primeira vez, por investigar diretamente se o estado de treinamento poderia influenciar os efeitos ergogênicos da suplementação de beta-alanina. Os principais resultados do nosso estudo foram que 4 semanas de suplementação de beta-alanina foram efetivas em melhorar o desempenho físico intermitente de membros inferiores, em magnitude similar, em ambos os participantes treinados e não treinados.

Os resultados do nosso estudo estão em contraste com os resultados de estudos anteriores que não demonstraram qualquer efeito positivo da suplementação de beta-alanina em atletas treinados (DERAVE, OZDEMIR, HARRIS, POTTIER, REYNGOUDT, KOPPO, WISE & ACHTEN, 2007; BAGUET, BOURGOIS, VANHEE, ACHTEN & DERAIVE, 2010; SAUNDERS, SALE, HARRIS & SUNDERLAND, 2012; BELLINGER, HOWE, SHING & FELL, 2012). As diferenças nos resultados podem ter ocorrido devido ao protocolo de exercício empregado; os estudos anteriores podem não ter se utilizado de protocolos de exercício com intensidade e/ou duração suficientes para serem limitados pela queda do pH intramuscular, mascarando qualquer efeito de uma capacidade de tamponamento muscular aumentada. É conhecido que o exercício intermitente supramáximo promove uma acidose intramuscular consideravelmente maior do que exercícios contínuos de alta intensidade (HERMANSEN & OSNES, 1972; BELFRY, RAYMER, MARSH, PATERSON, THOMPSON & THOMAS, 2012), provavelmente porque o primeiro possui maior dependência da ressíntese de ATP por meio da via glicolítica (BELFRY, RAYMER, MARSH, PATERSON, THOMPSON & THOMAS, 2012). Logo, é razoável supor que a acidose muscular é um importante fator limitando o desempenho físico durante exercícios intermitentes, e que este tipo de exercício, conseqüentemente, é mais suscetível a melhoras com uma capacidade tamponante aumentada. O teste de Wingate com 4 séries para membros inferiores é

extremamente intenso em natureza e requer que o indivíduo o desempenho maximamente em cada série. ARTIOLI, GUALANO, COELHO, BENATTI, GAILEY & LANCHETA JR (2007) observaram em seu estudo valores de lactato sanguíneo que chegavam à $\sim 15 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ após um teste de Wingate com 4 séries para membros superiores, destacando a relevante contribuição da glicólise anaeróbia para este tipo de teste. Portanto, o teste de Wingate com séries consecutivas parece ser um modelo apropriado para detectar melhoras no desempenho físico promovidas por estratégias nutricionais que aumentem a capacidade de tamponamento.

No presente estudo, antes do início da suplementação, não foram observadas diferenças no trabalho total realizado ou na perda de desempenho no teste de Wingate entre os grupos não treinados (NTBA vs. NTPL) e treinados (TBA vs. TPL), indicando que a randomização gerou com sucesso grupos semelhantes em cada perfil. Além disso, foi observado que o trabalho total realizado previamente ao início da suplementação foi aproximadamente 11% maior na população treinada do que na não treinada ($P < 0.05$), indicando que o teste de Wingate com 4 séries para membros inferiores teve sensibilidade suficiente para detectar as diferenças entre o estado de treinamento dos participantes. Em adição a este fato, a perda de desempenho da 1ª até a 4ª série no teste em questão foi aproximadamente 20% maior nos grupos não treinados comparada aos grupos treinados (em média, 32% vs. 12% de perda de desempenho, respectivamente; $P < 0.05$), também confirmando dessa maneira a excelente sensibilidade deste teste. Considerando-se que já foi demonstrado que a capacidade de tamponamento muscular possui correlação alta e significativa com a capacidade de realizar "*sprints*" consecutivos e com a perda de desempenho ao longo dos "*sprints*" (BISHOP, EDGE & GOODMAN, 2004), é plausível supor que os participantes dos grupos treinados do nosso estudo possuíam uma maior capacidade de tamponamento muscular do que os participantes nos grupos não treinados. Contudo, tal variável não foi mensurada na presente investigação pois teriam sido necessárias biópsias musculares, as quais seriam extremamente invasivas e inviáveis de serem realizadas em atletas durante uma temporada competitiva.

Apesar das notáveis diferenças na capacidade de realizar "*sprints*" consecutivos entre os grupos treinados e não treinados, 4 semanas de suplementação com beta-alanina mostraram-se eficazes em aumentar significativamente o trabalho total realizado, em magnitude similar, em ambos os

participantes não treinados e treinados (2.52 ± 2.64 e $3.64 \pm 2.87\%$, respectivamente). A magnitude do aumento do trabalho total observada no nosso estudo foi maior do que o coeficiente de variação calculado para esta variável nos perfis não treinado e treinado (2.42 ± 1.86 e $1.78 \pm 1.27\%$, respectivamente). Porém, conforme mencionado anteriormente, tal coeficiente de variação foi calculado através da variação do trabalho total entre a sessão de habituação e a sessão pré-suplementação. Logo, sessões de familiarização teriam sido necessárias para identificar a real variação dos participantes do nosso estudo. Contudo, dados de um estudo piloto teste-reteste e de outros estudos de nosso grupo (ARTIOLI, GUALANO, COELHO, BENATTI, GAILEY & LANCHI Jr, 2007) já revelaram que o protocolo empregado é altamente reprodutível em indivíduos com características semelhantes (variação média = 0.6%, ICC = 0.973, $r = 0.942$, $F = 0.06$, $P = 0.80$). Interessantemente, as melhoras no desempenho observadas neste estudo estão em consonância com uma recente meta-análise que mostrou um efeito mediano positivo de 2.85% da suplementação de beta-alanina sobre o desempenho físico (HOBSON, SAUNDERS, BALL, HARRIS & SALE, 2012).

Embora o aumento de aproximadamente 3% no trabalho total observado no nosso estudo possa apenas sugerir um efeito discreto da suplementação de beta-alanina, conforme mencionado anteriormente, é interessante notar que o trabalho total dos grupos treinados no período pré-suplementação era aproximadamente 11% maior do que no grupo não treinado, significando que 4 semanas de suplementação de beta-alanina provocaram uma melhora de desempenho que representa cerca de um terço da melhora proporcionada por vários anos de treinamento. Além disso, considerando os tempos de corrida na final masculina da prova de velocidade por equipe no ciclismo, nos últimos jogos Olímpicos de Londres, a melhora absoluta promovida pela suplementação de beta-alanina nos atletas treinados deste estudo teriam elevado a equipe posicionada na 6ª colocação para o 1º lugar. Entretanto, é importante ressaltar que nenhum dos atletas deste estudo possuía índices olímpicos na época da coleta de dados, embora todos fossem bem treinados e a maioria estivesse competindo em nível nacional. Logo, recomenda-se cautela ao extrapolar os achados deste estudo para atletas olímpicos de elite.

Neste estudo, conforme observado, o trabalho total realizado aumentou principalmente devido a um aumento na capacidade de manutenção da potência média durante as séries do teste de Wingate. Poder-se-ia esperar um efeito benéfico

da suplementação de beta-alanina nas séries finais do teste, já que é improvável que um único esforço máximo de 30 segundos seja afetado por uma queda do pH muscular (BOGDANIS, NEVILL, LAKOMY & BOOBIS, 1998). ARTIOLI, GUALANO, COELHO, BENATTI, GAILEY & LANCHI Jr (2007) empregaram um protocolo de Wingate semelhante para membros superiores e observaram um aumento da potência média na última série de exercício quando atletas de judô bem treinados foram suplementados com bicarbonato de sódio de modo a verificar o efeito de uma elevada capacidade tamponante extracelular sobre o desempenho físico. Semelhantemente, os participantes não treinados suplementados com beta-alanina neste estudo (isto é, NTBA) melhoraram sua potência média na última série de exercício, provavelmente devido a um aumento da capacidade tamponante intramuscular proveniente de um conteúdo muscular de carnosina aumentado. Entretanto, os participantes treinados suplementados com beta-alanina (isto é, TBA) apresentaram uma potência média melhorada em quase todas as séries do teste. Embora estes resultados em específico sejam demasiadamente difíceis de serem explicados com o modelo experimental adotado em nosso estudo, poder-se-ia especular que a suplementação de beta-alanina proporcionou uma melhor qualidade de treino a estes participantes durante o período de suplementação, melhorando o volume e/ou a intensidade do treinamento, aumentando dessa forma a potência média em quase todas as séries do teste de Wingate neste grupo. Contudo, somente podemos especular sobre esse possível mecanismo já que, em nosso estudo, não utilizamos instrumentos que avaliassem aspectos específicos da rotina de treino dos atletas (como intensidade, volume e percepção de esforço durante as sessões de treino). Estudos futuros investigando os efeitos ergogênicos da suplementação de beta-alanina em atletas treinados devem atentar a este tipo de avaliação, de forma a confirmar um possível efeito aditivo entre o treinamento físico e esta estratégia nutricional.

Uma outra potencial limitação deste estudo está relacionada ao fato de que não foi possível realizar análises musculares para confirmar a eficácia da suplementação de beta-alanina em aumentar o conteúdo muscular de carnosina. Considerando-se que a ingestão de carnosina e beta-alanina na dieta vem sendo apontadas como os fatores limitantes para a síntese de carnosina no músculo esquelético (HARRIS, TALLON, DUNNETT, BOOBIS, COAKLEY, KIM, FALLOWFIELD, HILL, SALE, & WISE, 2005), uma alternativa levantada para suprir

esta limitação metodológica neste estudo foi a avaliação do consumo de dipeptídeos histidínicos na dieta, a qual, conforme apresentado na seção de resultados, não foi diferente entre os grupos experimentais. Tal resultado nos permite especular que a dieta realizada pelos participantes do estudo, em específico, o consumo alimentar de dipeptídeos histidínicos, não teve qualquer influencia sobre os resultados finais do trabalho. Além disso, todos os estudos com humanos utilizando doses de 1,6 a 6,4 gramas de beta-alanina por dia durante 4 semanas ou mais têm relatado consistentemente aumentos superiores a 40% nas concentrações intramusculares de carnosina, com atualmente apenas um voluntário sendo relatado como não-respondente na literatura (SALE, SAUNDERS & HARRIS, 2010). Portanto, pode-se supor que a suplementação de beta-alanina foi efetiva em aumentar o conteúdo muscular de carnosina em todos os participantes. Além disso, baseado nos atuais achados deste estudo mostrando que os participantes treinados e não treinados melhoraram igualmente o desempenho após a suplementação de beta-alanina, e considerando que os valores iniciais de carnosina parecem não influenciar o acúmulo de carnosina no músculo induzido pela suplementação de beta-alanina (STELLINGWERFF, ANWANDER, EGGER, BUEHLER, KREIS, DECOMBAZ & BOESCH, 2012), pode-se inferir que o estado de treinamento *per se* não leva a aumentos diferentes no conteúdo muscular de carnosina após a ingestão de beta-alanina. Contudo, estudos futuros com mensurações de carnosina muscular são necessários para validar esta hipótese.

É importante notar que 3 de 20 participantes que foram suplementados com beta-alanina relataram suave parestesia, a qual é um sintoma comumente descrito quando uma dose única de 1600 miligramas de beta-alanina é ingerida (HARRIS, TALLON, DUNNETT, BOOBIS, COAKLEY, KIM, FALLOWFIELD, HILL, SALE, & WISE, 2006; DECOMBAZ, BEAUMONT, VUICHOUD, BOUISSET & STELLINGWERFF, 2011). O mesmo sintoma não é observado quando 1600 miligramas de beta-alanina são fornecidas em tabletes de liberação controlada ou de lenta-absorção (SALE, SAUNDERS, HUDSON, WISE, HARRIS & SUNDERLAND, 2011; SAUNDERS, SALE, HARRIS & SUNDERLAND, 2012; STELLINGWERFF, ANWANDER, EGGER, BUEHLER, KREIS, DECOMBAZ & BOESCH, 2012), sugerindo que a estratégia utilizada no nosso estudo para diminuir a velocidade de absorção da beta-alanina (isto é, a adição de carboximetilcelulose às capsulas gelatinosas) não foi totalmente bem sucedida na prevenção da parestesia. Apesar

disso, nossos dados mostram que os participantes não foram capazes de adivinhar corretamente a substância que estavam ingerindo, indicando que o "vendamento" do presente estudo permaneceu intacto.

7. CONCLUSÃO

Em conclusão, quatro semanas de suplementação de beta-alanina foram efetivas em melhorar o desempenho físico intermitente de membros inferiores em ambos os participantes treinados e não treinados. Estes dados ressaltam a eficiência da beta-alanina como um suplemento nutricional ergogênico para exercícios de alta intensidade, independentemente do estado de treinamento do indivíduo.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS¹

ABE, H. **Role of histidine-related compounds as intracellular proton buffering constituents in vertebrate muscle.** Biochemistry (Mosc), v. 65, n. 7, p. 757–765, 2000.

ALLEN, D.G.; LAMB, G.D.; WESTERBLAD, H. **Impaired calcium release during fatigue.** Journal of Applied Physiology, v. 104, n. 1, p. 296-305, 2008.

ARTIOLI, G.G.; GUALANO, B.; COELHO, D.F.; BENATTI, F.B.; GAILEY, A.W.; LANCHI JR, A.H. **Does sodium-bicarbonate ingestion improve simulated judo performance?** International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism, v. 17, n. 2, p. 206-217, 2007.

ARTIOLI, G.G.; GUALANO, B.; SMITH, A.; STOUT, J.; LANCHI JR, A.H. **Role of beta-alanine supplementation on muscle carnosine and exercise performance.** Medicine and Science in Sports and Exercise, v. 42, n. 6, p. 1162-1173, 2010.

ASATOOR, A.M.; BANDO, J.K.; LANT, A.F.; MILNE, M.D.; NAVAB, F. **Intestinal absorption of carnosine and its constituent amino acids in man.** Gut, v. 11, n. 3, p. 250-254, 1970.

BAGUET, A.; BOURGOIS, J.; VANHEE, L.; ACHTEN, E.; DERAVE, W. **Important role of muscle carnosine in rowing performance.** Journal of Applied Physiology, v. 109, n. 4, p. 1096-1101, 2010.

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

BAGUET, A.; EVERAERT, I.; DE NAEYER, H.; REYNGOUDT, H.; STEGEN, S.; BEECKMAN, S.; ACHTEN, E.; VANHEE, L.; VOLKAERT, A.; PETROVIC, M.; TAES, Y.; DERAIVE, W. **Effects of sprint training combined with vegetarian or mixed diet on muscle carnosine content and buffering capacity.** European of Journal Applied Physiology, v. 111, n. 10, p. 2571-2580, 2011.

BAUER, K.; SCHULZ, M. **Biosynthesis of carnosine and related peptides by skeletal muscle cells in primary culture.** European Journal of Biochemistry, v. 219, n. 1-2, p. 43-47, 1994.

BELFRY, G.R.; RAYMER, G.H.; MARSH, G.D.; PATERSON, D.H.; THOMPSON, R.T.; THOMAS, S.G. **Muscle metabolic status and acid-base balance during 10-s work:5-s recovery intermittent and continuous exercise.** Journal of Applied Physiology, v. 113, n. 3, p. 410-417, 2012.

BELL, G.J.; WENGER, H.A. **The effect of one-legged sprint training on intramuscular pH and non-bicarbonate buffering capacity.** European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology, v. 58, n. 1-2, p. 158-164, 1988.

BELLINGER, P.M.; HOWE, S.T.; SHING, C.M.; FELL, J.W. **The Effect of Combined B-Alanine and NaHCO₃ Supplementation on Cycling Performance.** Medicine and Science in Sports and Exercise, v. 44, n. 8, p. 1545-1551, 2012.

BISHOP, D.; EDGE, J.; GOODMAN, C. **Muscle buffer capacity and aerobic fitness are associated with repeated-sprint ability in women.** European Journal of Applied Physiology, v. 92, n. 4, p. 540-547, 2004.

BOGDANIS, G.C.; NEVILL, M.E.; LAKOMY, H.K.; BOOBIS, L.H. **Power output and muscle metabolism during and following recovery from 10 and 20 s of maximal sprint exercise in humans.** *Acta Physiologica Scandinavica*. v. 163, n. 3, p. 261-72, 1998.

BOLDYREV, A.A.; KOLDOBSKI, A.; KURELLA, E.; MALTSEVA, V.; STVOLINSKI, S. **Natural histidine-containing dipeptide carnosine as a potent hydrophilic antioxidant with membrane stabilizing function. A biomedical aspect.** *Molecular and Chemical Neuropathology*. v. 19, n. 1-2, p. 185–192, 1993.

BRIEN, D.M.; MCKENZIE, D.C. **The effects of induced alkalosis and acidosis on plasma lactate and work output in elite oarsmen.** *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology*, v. 58, n. 8, p. 797-802, 1989.

DAWSON, M.J.; GADIAN, D.G.; WILKIE, D.R. **Muscular fatigue investigated by phosphorus nuclear magnetic resonance.** *Nature*, v. 274, n. 5674, p. 861-866, 1978.

DECOMBAZ, J.; BEAUMONT, M.; VUICHOD, J.; BOUISSET, F.; STELLINGWERFF, T. **Effect of slow-release beta-alanine tablets on absorption kinetics and paresthesia.** *Amino Acids*, v. 43, n. 1, p. 67-76, 2011.

DERAVE, W.; OZDEMIR, M.S.; HARRIS, R.C.; POTTIER, A.; REYNGOUDT, H.; KOPPO, K.; WISE, J.A.; ACHTEN, E. **Beta-Alanine supplementation augments muscle carnosine content and attenuates fatigue during repeated isokinetic contraction bouts in trained sprinters.** *Journal of Applied Physiology*, v. 103, n. 5, p. 1736-1743, 2007.

DERAVE, W.; EVERAERT, I.; BEECKMAN, S.; BAGUET, A. **Muscle carnosine metabolism and β -alanine supplementation in relation to exercise and training.** Sports Medicine, v. 40, n. 3, p. 247-263, 2010.

DONALDSON, S.K.; HERMANSEN, L.; BOLLES, L. **Differential, direct effects of H^+ on Ca^{2+} -activated force of skinned fibers from the soleus, cardiac and adductor magnus muscles of rabbits.** Pflugers Archiv: European Journal of Physiology, v. 376, n. 1, p. 55-65, 1978.

DUNNETT, M.; HARRIS, R.C. **Carnosine and taurine contents of different fibre types in the middle gluteal muscle of the Thoroughbred horse.** Equine Veterinary Journal, v. 18, p. 214–217, 1997.

EDGE, J.; BISHOP, D.; GOODMAN, C. **The effects of training intensity on muscle buffer capacity in females.** European Journal of Applied Physiology, v. 96, n. 1, p. 97-105, 2006 (a).

EDGE, J.; BISHOP, D.; GOODMAN, C. **Effects of chronic $NaHCO_3$ ingestion during interval training on changes to muscle buffer capacity, metabolism, and short-term endurance performance.** Journal of Applied Physiology, v. 101, n. 3, p. 918-925, 2006 (b).

FABIATO, A.; FABIATO, F. **Effects of pH on the myofilaments and the sarcoplasmic reticulum of skinned cells from cardiac and skeletal muscles.** The Journal of Physiology, v. 276, p. 233-255, 1978.

FITTS, R.H. **Cellular mechanisms of muscle fatigue.** Physiological Reviews, v. 74, n. 1, p. 49-94, 1994.

HARRIS, R.C.; EDWARDS, R.H.; HULTMAN, E.; NORDESJO, L.O.; NYLIND, B.; SAHLIN, K. **The time course of phosphorylcreatine resynthesis during recovery of the quadriceps muscle in man.** Pflugers Archiv: European Journal of Physiology, v. 367, n. 2, p. 137-142, 1976.

HARRIS, R.C.; DUNNETT, M.; GREENHAFF, P.L. **Carnosine and taurine contents in individual fibres in human vastus lateralis muscle.** Journal of Sports Sciences, v. 16, p. 639–643, 1998.

HARRIS, R.C.; TALLON, M.J.; DUNNETT, M.; BOOBIS, L.; COAKLEY, J.; KIM, H.J.; FALLOWFIELD, J.L.; HILL, C.A.; SALE, C.; WISE, J.A. **The absorption of orally supplied Beta-Alanine and its effect on muscle carnosine synthesis in human vastus lateralis.** Amino Acids, v. 30, n. 3, p. 279-289, 2005.

HERMANSEN, L.; OSNES, J.B. **Blood and muscle pH after maximal exercise in man.** Journal of Applied Physiology, v. 32, n. 3, p. 304-8, 1972.

HILL, C.A.; HARRIS, R.C.; KIM, H.J.; HARRIS, B.D.; SALE, C.; BOOBIS, L.H.; KIM, C.K.; WISE, J.A. **Influence of beta-alanine supplementation on skeletal muscle carnosine concentrations and high intensity cycling capacity.** Amino Acids, v. 32, n. 2, p. 225-233, 2007.

HIPKISS, A.R.; MICHAELIS, J.; SYRRIS, P. **Non-enzymatic glycosylation of the dipeptide L-carnosine, a potential anti-protein-cross-linking agent.** FEBS Letters, v. 371, n. 1, p. 81–85, 1995.

HIPKISS, A.R. **Carnosine and protein carbonyl groups: a possible relationship.** Biochemistry (Mosc), v. 65, n. 7, p. 771–778, 2000.

HOBSON, R.M.; SAUNDERS, B.; BALL, G.; HARRIS, R.C.; SALE, C. **Effects of β -alanine supplementation on exercise performance: a meta-analysis.** Amino Acids, v. 43, n.1, p. 25-37, 2012.

HOFFMAN, J.; RATAMESS, N.A.; ROSS, R.; KANG, J.; MAGRELLI, J.; NEESE, K., FAIGENBAUM, A.D.; WISE, J.A. **Beta-alanine and the hormonal response to exercise.** International Journal of Sports Medicine, v. 29, n. 12, p. 952-958, 2008.

HOFFMAN, J.; RATAMESS, N.A.; FAIGENBAUM, A.D.; ROSS, R.; KANG, J.; STOUT, J.R.; WISE, J.A. **Short-duration beta-alanine supplementation increases training volume and reduces subjective feelings of fatigue in college football players.** Nutrition Research, v. 28, n. 1, p. 31-35, 2008.

HORINISHI, H.; GRILLO, M.; MARGOLIS, F.L. **Purification and characterization of carnosine synthetase from mouse olfactory bulbs.** Journal of Neurochemistry, v. 31, n. 4, p. 909-919, 1978.

INBAR, O.; BAR-OR, O. **Anaerobic characteristics in male children and adolescents.** Medicine and Science in Sports and Exercise, v. 18, n. 3, p. 264–269, 1986.

JONES, G.; SMITH, M.; HARRIS, R. **Imidazole dipeptide content of dietary sources commonly consumed within the British diet.** Proceedings of the Nutrition Society, 70 (OCE6), E363, 2011.

JUEL, C. **Regulation of pH in human skeletal muscle: adaptations to physical activity.** Acta Physiologica (Oxford, England), v. 193, n. 1, p. 17-24, 2008.

KENDRICK, I.P.; HARRIS, R.C.; KIM, H.J.; KIM, C.K.; DANG, V.H.; LAM, T.Q.; BUI, T.T.; SMITH, M.; WISE, J.A. **The effects of 10 weeks of resistance training combined with beta-alanine supplementation on whole body strength, force production, muscular endurance and body composition.** Amino Acids, v. 34, n. 4, p. 547-554, 2008.

KENDRICK, I.P.; KIM, H.J.; HARRIS, R.C.; KIM, C.K.; DANG, V.H.; LAM, T.Q.; BUI, T.T.; WISE, J.A. **The effect of 4 weeks beta-alanine supplementation and isokinetic training on carnosine concentrations in type I and II human skeletal muscle fibres.** European Journal of Applied Physiology, v. 106, n. 1, p. 131-138, 2009.

LAMONT, C.; MILLER, D.J. **Calcium sensitizing action of carnosine and other endogenous imidazoles in chemically skinned striated muscle.** Journal of Physiology, v. 454, p. 421–434, 1992.

MANNION, A.F.; JAKEMAN, P.M.; WILLAN, P.L. **Effects of isokinetic training of the knee extensors on high-intensity exercise performance and skeletal muscle buffering.** European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology, v. 68, n. 4, p. 356-361, 1994.

MATHEWS, M.M.; TRAUT, T.W. **Regulation of N-carbamoyl-beta-alanine amidohydrolase, the terminal enzyme in pyrimidine catabolism, by ligand-induced change in polymerization.** The Journal of Biological Chemistry, v. 262, n. 15, p. 7232-7237, 1987.

NG, R.H.; MARSHALL, F.D. **Regional and subcellular distribution of homocarnosine-carnosine synthetase in the central nervous system of rats.**

Journal of Neurochemistry, v. 30, n. 1, p. 87-90, 1978.

PAINELLI, V.S.; ROSCHEL, H.; DE JESUS, F.; SALE, C.; HARRIS, R.C.; SOLIS, M.Y.; BENATTI, F.B.; GUALANO, B.; LANCH JR, A.H.; ARTIOLI, G.G. **The Ergogenic Effect of Beta-Alanine Combined With Sodium Bicarbonate on Swimming Performance.** Applied Physiology, Nutrition and Metabolism, 2013, no prelo.

PARKHOUSE, W.S.; MCKENZIE, D.C.; HOCHACHKA, P.W.; OVALLE, W.K. **Buffering capacity of deproteinized human vastus lateralis muscle.** Journal of Applied Physiology, v. 58, n. 1, p. 14-17, 1985.

SALE, C.; HILL, C.A.; PONTE, J.; HARRIS, R.C. **β -alanine supplementation improves isometric endurance of the knee extensor muscles.** Journal of the International Society of Sports Nutrition, v. 29, n. 6, 2012.

ROBERGS, R.A.; GHIASVAND, F.; PARKER, D. **Biochemistry of exercise-induced metabolic acidosis.** American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology, v. 287, n. 3, p. 502-516, 2004.

SAHLIN, K. **Metabolic factors in fatigue.** Sports Medicine, v. 13, n. 2, p. 99-107, 1992.

SALE, C.; SAUNDERS, B.; HARRIS, R.C. **Effect of beta-alanine supplementation on muscle carnosine concentrations and exercise performance.** Amino Acids, v. 39, n. 2, p. 321-33, 2010.

SALE, C.; SAUNDERS, B.; HUDSON, S.; WISE, J.A.; HARRIS, R.C.; SUNDERLAND, C.D. **Effect of β -alanine plus sodium bicarbonate on high-intensity cycling capacity.** Medicine and Science in Sports and Exercise, v. 43, n. 10, p. 1972-1978, 2011.

SAUNDERS, B.; SALE, C.; HARRIS, R.C.; SUNDERLAND, C. **Effect of beta-alanine supplementation on repeated sprint performance during the Loughborough Intermittent Shuttle Test.** Amino Acids, v. 43, n. 1, p. 39-47, 2012. (a)

SAUNDERS, B.; SUNDERLAND, C.; HARRIS, R.C.; SALE, C. **β -alanine supplementation improves YoYo intermittent recovery test performance.** Journal of the International Society of Sports Nutrition, v. 9, n. 1, p. 39, 2012. (b)

SCAGLIUSI, F.B.; POLACOW, V.O.; ARTIOLI, G.G.; BENATTI, F.B.; LANCHI JR, A.H. **Selective underreporting of energy intake in women: magnitude, determinants, and effect of training.** Journal of the American Dietetic Association, v. 103, n. 10, p. 1306-1313, 2003.

SMITH-RYAN, A.E.; FUKUDA, D.H.; STOUT, J.R.; KENDALL, K.L. **High-velocity intermittent running: effects of beta-alanine supplementation.** Journal of Strength and Conditioning Research, v. 26, n. 10, p. 2798-805, 2012.

STELLINGWERFF, T.; ANWANDER, H.; EGGER, A.; BUEHLER, T.; KREIS, R.; DECOMBAZ, J.; BOESCH, C. **Effect of two β -alanine dosing protocols on muscle carnosine synthesis and washout.** Amino Acids, v. 42, n. 6, p. 2461-2472, 2012.

STOUT, J.R.; CRAMER, J.T.; MIELKE, M.; O'KROY, J.; TOROK, D.J.; ZOELLER, R.F. **Effects of twenty-eight days of beta-alanine and creatine monohydrate supplementation on the physical working capacity at neuromuscular fatigue threshold.** Journal of Strength and Conditioning Research, v. 20, n. 4, p. 928-931, 2006.

STOUT, J.R.; CRAMER, J.T.; ZOELLER, R.F.; TOROK, D.; COSTA, P.; HOFFMAN, J.R.; HARRIS, R.C.; O'KROY, J. **Effects of beta-alanine supplementation on the onset of neuromuscular fatigue and ventilatory threshold in women.** Amino Acids, v. 32, n. 3, p. 381-386, 2007.

STOUT, J.R.; GRAVES, B.S.; SMITH, A.E.; HARTMAN, M.J.; CRAMER, J.T.; BECK, T.W.; HARRIS, R.C. **The effect of beta-alanine supplementation on neuromuscular fatigue in elderly (55–92 Years): a double-blind randomized study.** Journal of the International Society of Sports Nutrition, v. 5, n. 21, 2008.

SUTTON, J.R.; JONES, N.L.; TOEWS, C.J. **Effect of PH on muscle glycolysis during exercise.** Clinical Science (London, England: 1979), v. 61, n. 3, p. 331-338, 1981.

SUZUKI, Y.; ITO, O.; TAKAHASHI, H. **The effect of sprint training on skeletal muscle carnosine in humans.** International Journal of Sport and Health Science, v. 2, p. 105-110, 2004.

SWEENEY, K.M.; WRIGHT, G.A.; GLENN BRICE, A.; DOBERSTEIN, S.T. **The effect of beta-alanine supplementation on power performance during repeated sprint activity.** Journal of Strength and Conditioning Research, v. 24, n. 1, p. 79-87, 2010.

TALLON, M.J.; HARRIS, R.C.; BOOBIS, L.H.; FALLOWFIELD, J.L.; WISE, J.A. **The carnosine content of vastus lateralis is elevated in resistance-trained bodybuilders.** Journal of Strength and Conditioning Research, v. 19, n. 4, p. 725-729, 2005.

VAN THIENEN, R.; VAN PROEYEN, K.; VANDEN EYNDE, B.; PUYPE, J.; LEFERE, T.; HESPEL, P. **Beta-alanine improves sprint performance in endurance cycling.** Medicine and Science in Sports and Exercise, v. 41, n. 4, p. 898-903, 2009.

WESTERBLAD, H.; ALLEN, D.G.; LANNERGREN, J. **Muscle fatigue: lactic acid or inorganic phosphate the major cause?** News in Physiological Sciences, v. 17, p. 17-21, 2002.

WESTON, A.R.; MYBURGH, K.H.; LINDSAY, F.H.; DENNIS, S.C.; NOAKES, T.D.; HAWLEY, J.A. **Skeletal muscle buffering capacity and endurance performance after high-intensity interval training by well-trained cyclists.** European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology, v. 75, n. 1, p. 7-13, 1997.