UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE EDUCAÇÃO FÍSICA E ESPORTE

Suplementação de beta-alanina e bicarbonato de sódio: efeitos sobre a utilização dos sistemas energéticos durante o exercício intermitente de alta intensidade

Rafael Pires da Silva

SÃO PAULO
2016

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE EDUCAÇÃO FÍSICA E ESPORTE

Suplementação de beta-alanina e bicarbonato de sódio: efeitos sobre a utilização dos sistemas energéticos durante o exercício intermitente de alta intensidade

Rafael Pires da Silva

SÃO PAULO
2016

RAFAEL PIRES DA SILVA

Suplementação de beta-alanina e bicarbonato de sódio: efeitos sobre a
utilização dos sistemas energéticos durante o exercício intermitente de
alta intensidade

VERSÃO CORRIGIDA

(Versão original disponível no Serviço de Biblioteca)

Tese apresentada à Escola de Educação Física e Esporte da Universidade de São Paulo, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Ciências.

Área de concentração: Estudos Biotinômicos da Educação Física e Esporte

Orientador: Prof. Dr. Antonio Herbert Lancha Junior

São Paulo

2016

Catálogo da Publicação
Serviço de Biblioteca
Escola de Educação Física e Esporte da Universidade de São Paulo

Silva, Rafael Pires da

Suplementação de beta-alanina e bicarbonato de sódio:
efeitos sobre a utilização dos sistemas energéticos durante o
exercício intermitente de alta intensidade / Rafael Pires da
Silva. – São Paulo :[s.n.], 2016.

120p.

Tese (Doutorado) - Escola de Educação Física e
Esporte da Universidade de São Paulo.

Orientador: Prof. Dr. Antonio Herbert Lancha Junior.

1. Metabolismo 2. Desempenho esportivo 3. Fadiga muscular
4. Acidose 5. Exercício físico I. Título.

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Autor: SILVA, Rafael Pires da

Título: Suplementação de beta-alanina e bicarbonato de sódio: efeitos sobre a utilização dos sistemas energéticos durante o exercício intermitente de alta intensidade.

Tese apresentada à Escola de Educação Física e Esporte da Universidade de São Paulo, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Ciências

Data:___/___/___

Banca Examinadora

Prof. Dr.:_____

Instituição:_____Julgamento:_____

Prof. Dr.:_____

Instituição:_____Julgamento:_____

Prof. Dr.:_____

Instituição:_____Julgamento:_____

Prof. Dr.:_____

Instituição:_____Julgamento:_____

Prof. Dr.:_____

Instituição:_____Julgamento:_____

Dedico este trabalho à minha mãe, Arlete.

AGRADECIMENTOS

A realização de um trabalho, independentemente de sua natureza, requer invariavelmente a introdução de certa quantidade de energia. A magnitude da eficiência na concretização da tarefa, por sua vez, é muitas vezes proporcional a esta energia adicionada, o que nos leva ao fato inconcusso e talvez piegas, mas nunca ultrapassado de que a “união faz a força”. Estas linhas tem o notório propósito de legitimar a contribuição daqueles que ajudaram de algum modo a fazer deste trabalho de doutorado, uma experiência enriquecedora.

Uma questão controvertível, entretanto, recai sobre a incapacidade real de atribuir o reconhecimento ponto a ponto a quem lhe é de direito. Isso porque, a concretização de uma longa etapa como esta vai muito além da discussão de uma ideia, metodologias ou coleta de dados. Quando se decide abandonar a zona de conforto, e se atirar em um novo desafio, você entende que é preciso infligir valor às mínimas, quase insensíveis e subliminares manifestações de terceiros em sua trajetória. Reconheço, portanto, que é quase impossível recordar o nome da pessoa que me indicou erroneamente onde era o Laboratório de Nutrição e Metabolismo em minha primeira visita... e sim, isso é digno de observação, acredite! Para me ajudar a resolver esta questão vou recorrer a um autor de quem gosto muito e escreveu em seu último livro que: *“Quem nadou em um mar aberto sabe: antes de lutar desesperadamente contra a correnteza, é melhor deixar-se levar por instantes; é preciso ter calma e coragem; a correnteza enfraquece, então saímos fora”*.

Vou aceitar, portanto, a sugestão do Marcelo Rubens Paiva e elaborar de forma bem pragmática e nada sentimental, contrariando assim minhas expectativas, um texto de agradecimento claro e sucinto, direcionado a todos aqueles que diretamente me ajudaram a ter calma, coragem e paciência para vencer a correnteza. Entretanto, faz-se saber que a possível apartação de alguns nomes aqui deve ser encarada apenas como “licença poética”.

Agradeço ao Prof. Antonio Herbert Lancha Junior que gentilmente me recebeu no grupo do laboratório e consentiu a realização deste trabalho. Muito obrigado pelo apoio, disponibilidade e valiosa contribuição.

Um agradecimento especial ao Prof. Guilherme Giannini Artioli quem primeiramente acreditou no potencial de desenvolvimento deste estudo e não mediu

esforços para que o meu amadurecimento profissional fosse muito além da finalização deste projeto.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelas bolsas e auxílios para o fomento da pesquisa.

Aos membros da Comissão de Pós-Graduação da Escola de Educação Física e Esportes da USP (EEFE-USP) pela aprovação do projeto de pesquisa e consentimento para a realização do estudo. Estendo este agradecimento ao parceiro Márcio Aparecido do Nascimento, pelo direcionamento e aconselhamento nas inúmeras questões burocráticas da vida acadêmica.

Aos professores Emerson Franchini, Alessandro Zagatto e João C. Bouzas Marins que atenciosamente aceitaram fazer parte da comissão julgadora do exame de qualificação e da defesa, contribuindo sobremaneira para a qualidade do trabalho.

Aos voluntários que participaram desta pesquisa, um agradecimento muito especial e eterna admiração.

Agradeço a todos os professores da EEFE-USP pela oportunidade de convívio e aprendizado diário. Em especial aos professores Bruno Gualano, Hamilton Roschel agradeço pelos exemplos, incentivos, inspiração e colaboração irrestrita em meu crescimento científico.

Aos professores Romulo Bertuzzi, Valmor Tricoli, Carlos Ugrinowitsch, Patrícia Brum, Cláudia Forjaz, Edilamar de Oliveira, Paulo Ramires e Julio Serrão, bem como todos os alunos e técnicos de seus respectivos laboratórios, pela inestimável colaboração intelectual e prática, além do consentimento para a utilização de seus materiais e equipamentos.

Aos colaboradores, parceiros e funcionários da EEFE-USP com os quais tive a imensa alegria de conviver e trabalhar.

Agradeço a todos os colegas do Laboratório de Nutrição e Metabolismo e do Grupo de Pesquisa em Fisiologia Aplicada & Nutrição por todo o apoio e pelas impagáveis trocas de experiências. Em especial o Vitor Procópio, técnico do laboratório, e aqueles envolvidos diretamente na realização deste trabalho; Luana Farias, Vitor Painelli, Vinícius Eira, Bryan Saunders e Carol Kratz.

Aos amigos e irmãos de alma que fazem a vida valer à pena; Rodrigo Fontes e Claudinha Vieira. Em especial, João Antônio Carmo, que sempre acreditou, incentivou e deu força para que tudo isso acontecesse, muito obrigado meu amigo!

À minha família de amor incondicional, obrigado pelo suporte, paciência e compreensão, sobretudo nas ausências; Vovó/bisa Darci, Cabeth, Reginaldo, Adão e meus amores Nathan, Samuel, Davi e a linda Lara.

À mamãe Arlete, culpada de tudo isso e cujo amor e gratidão são insuficientes de transcrição aqui ou em qualquer outro âmbito.

A Deus.

“ Se ainda o não disse, aí fica. Se disse, fica também. Há conceitos que se devem inculcar na alma do leitor, à força de repetição.

Dom Casmurro – Machado de Assis

RESUMO

SILVA, R. P. **Suplementação de beta-alanina e bicarbonato de sódio: efeitos sobre a utilização dos sistemas energéticos durante o exercício intermitente de alta intensidade.** 2016. 131 f. Tese (Doutorado em Ciências) - Escola de Educação Física e Esporte, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2016.

O acúmulo intramuscular de íons H^+ decorrente do exercício de alta intensidade inibe enzimas da via glicolítica, além de prejudicar diversas etapas do processo contrátil levando à fadiga. Especula-se que a suplementação combinada de beta-alanina (via aumento da concentração de carnosina) e bicarbonato de sódio aumentaria a capacidade tamponante intra e extracelular refletindo em efeitos sinérgicos no metabolismo energético e no desempenho, do que quando suplementados isoladamente. Poucos estudos investigaram a eficácia da combinação dos suplementos durante o exercício e não há informações sobre os efeitos desta combinação nos sistemas energéticos. Portanto, esse estudo teve por objetivo investigar a eficácia da suplementação combinada ou isolada de beta-alanina e bicarbonato de sódio enquanto estratégias de aumento da capacidade tamponante, bem como seu potencial na modulação do metabolismo energético e no desempenho do exercício intermitente de alta intensidade. O estudo contou com um desenho duplo-cego em que 77 voluntários (idade $38,6 \pm 9,9$ anos; massa corporal $76,6 \pm 8,4$ kg; VO_{2pico} $59,3 \pm 5,2$ $ml.kg^{-1}.min^{-1}$) foram randomizados e aleatoriamente alocados em um dos 4 grupos sendo; beta-alanina (BA; $n = 19$), bicarbonato de sódio (BIC; $n = 19$), beta-alanina e bicarbonato de sódio (BA + BIC; $n = 20$) ou dextrose (PLA; $n = 19$). A eficácia das substâncias na contribuição dos sistemas energéticos foi comparada antes e após um período de 28 dias de suplementação de 6,4g/dia de beta-alanina e de 0,3g/kg de massa corporal de bicarbonato de sódio administrada 60 minutos antes de um exercício intermitente em cicloergômetro, que consistia de 4 séries de 1 minuto a 110% da potência aeróbia máxima com 1 minuto de intervalo e cadência constante. Após 10 minutos de repouso passivo, o desempenho era avaliado em um teste *time-trial* cuja meta era completar um trabalho total de 30 kJ, no menor tempo possível. Foram mensuradas as concentrações sanguíneas de pH, bicarbonato, excesso de base e lactato antes, durante e após os exercícios. As frações dos sistemas oxidativo e alático (ATP-CP) foram estimadas com base no consumo de oxigênio e o glicolítico pelo delta da concentração do lactato. O perfil energético do exercício intermitente consistiu na maior parte do sistema oxidativo (45 - 55%), seguido do sistema ATP-CP (35 - 40%) e do glicolítico (8 - 15%). A suplementação de bicarbonato de sódio elevou ($P < 0,001$) as concentrações sanguíneas de bicarbonato (~ 6 mmol/L) e pH ($\sim 0,06$ unidades) nos grupos BIC e BA + BIC, gerando uma maior concentração do lactato nas séries iniciais o que refletiu no aumento do custo energético glicolítico na primeira série do exercício intermitente, sendo estatisticamente significativo somente no grupo BIC ($9,9 \pm 7,2$ kJ vs $18,7 \pm 9,4$ kJ; pré vs pós-suplementação). Não houve efeito da suplementação no tempo para completar o *time-trial* entre os grupos ou períodos de suplementação (BA -0,5%; BIC -1,4%; BA + BIC -4% e PLA 0%). A suplementação de bicarbonato de sódio, independentemente da suplementação de beta-alanina melhorou as variáveis de controle do equilíbrio ácido-base sanguíneo resultando na maior participação da via glicolítica, entretanto não conferiu benefícios adicionais ao desempenho. Palavras-chave: acidose; custo energético; fadiga muscular; desempenho físico, tamponantes, metabolismo.

ABSTRACT

SILVA, R. P. **Supplementation of beta-alanine and sodium bicarbonate: effects on energetic systems contribution during high-intensity intermittent exercise.** 2016. 131 f. Tese (Doutorado em Ciências) - Escola de Educação Física e Esporte, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2016.

Intramuscular accumulation of H^+ ions during high-intensity exercise inhibits glycolytic pathway enzymes and impairs several steps in the muscle-contraction process, causing fatigue. It has been suggested that a combined supplementation of beta-alanine (through an increase in carnosine concentration) and sodium bicarbonate would increase intra- and extracellular buffering capacity causing synergetic effects on energy metabolism and performance, more than each supplement alone. Few studies investigate the effectiveness of combined supplements during exercise and there is no literature on the effects of this combination on energy system contribution. Therefore, the present study investigated the effectiveness of both beta-alanine and sodium bicarbonate alone and together in increasing buffering capacity as well as the potential for modulating energy metabolism and performance during high-intensity intermittent exercise. The study was double-blind and 77 volunteers (aged 38.6 ± 9.9 year, body mass 76.6 ± 8.4 kg; VO_{2peak} 59.3 ± 5.2 ml.kg⁻¹.min⁻¹) were randomly assigned to four groups: beta-alanine (BA; n = 19), sodium bicarbonate (BIC; n = 19), beta-alanine and sodium bicarbonate (BA + BIC; n = 20), dextrose (PLA; n = 19). The efficacy of the substances in contributing to energy systems was compared before and after a 28-day period of supplementing 6.4g/day of beta-alanine and of 0.3g/kg of body mass of sodium bicarbonate administered 60 minutes before a cycling intermittent exercise, consisting of 4 sets of 1-minute each at 110% of maximum aerobic power with 1-minute intervals between each set and at an even pace. After 10 minutes of passive rest, performance was measured during a time-trial test in which participants were asked the complete 30 kJ of total work as fast as possible. Blood concentration of pH, bicarbonate, base excess, and lactate were measured before, during, and after intermittent and time trial protocols. The contributions of oxidative and anaerobic alactic (ATP-CP) were estimated based on oxygen consumption and the glycolytic system by the delta of lactate concentration. The energy demand of the intermittent exercises mostly consisted of the oxidative system (45-55%), followed by the ATP-CP system (35-40%), lastly glycolytic (8-15%). The sodium bicarbonate supplement elevated ($P > 0.001$) blood concentration of bicarbonate (~ 6 mmol/L) and pH (~ 0.06) units in the BIC and BA + BIC groups, generated a high concentration of lactate in the first sets, reflecting the increase in glycolytic energy cost in the first set of intermittent exercise, but was only statistically significant in the BIC group (9.9 ± 7.2 KJ vs 18.7 ± 9.4 KJ; pre vs post-supplementation). Supplementation did not have an effect on the time-trial times between groups or supplement periods (BA -0.5%, BIC -1.4%, BA + BIC -4%, PLA 0%). Supplementing with sodium bicarbonate, both alone and together with beta-alanine improved blood acid-base control during high-intensity intermittent exercise resulting in high participation of the glycolytic metabolism, however it did not lead to additional performance. Keywords: acidosis, energy cost, muscle fatigue, physical performance, buffering.

SUMÁRIO

1 – INTRODUÇÃO.....	1
2 - REVISÃO DE LITERATURA.....	6
2.1 <i>Metabolismo energético muscular durante o exercício de alta intensidade.....</i>	6
2.1.2 <i>Contribuição dos sistemas energéticos durante o exercício de alta intensidade.....</i>	8
2.2 <i>Aspectos metabólicos do controle ácido-base durante o exercício de alta intensidade.....</i>	10
2.2.1 <i>Características e função tamponante da Carnosina.....</i>	12
2.2.2 <i>Efeito da suplementação de beta-alanina no conteúdo de carnosina e sobre o desempenho do exercício de alta intensidade.....</i>	13
2.2.3 <i>Efeitos da suplementação de bicarbonato de sódio no desempenho do exercício de alta intensidade.....</i>	14
2.2.4 <i>Mecanismos de ação do bicarbonato.....</i>	16
2.3 <i>Coingestão de beta-alanina, bicarbonato de sódio e determinação da contribuição dos sistemas energéticos.....</i>	17
2.3.1 <i>Determinação da contribuição dos sistemas energéticos.....</i>	18
3 OBJETIVO.....	24
4 MÉTODOS.....	25
4.1 <i>Participantes.....</i>	25
4.2 <i>Desenho experimental.....</i>	29
4.3 <i>Protocolos de suplementação.....</i>	30
4.4 <i>Determinação da potência máxima e do VO₂pico.....</i>	34
4.5 <i>Protocolo de exercício intermitente.....</i>	34
4.6 <i>Teste de desempenho.....</i>	36
4.7 <i>Familiarização e reprodutibilidade dos testes.....</i>	37
4.8 <i>Coletas, processamento e análises das amostras de sangue.....</i>	38
4.9 <i>Determinação da contribuição dos sistemas energéticos.....</i>	39
4.10 <i>Avaliação do consumo alimentar.....</i>	40
4.11 <i>Análise estatística.....</i>	40
5 Resultados.....	42
5.1 <i>Reprodutibilidade dos dados.....</i>	43
5.1.1 <i>Variáveis sanguíneas.....</i>	43
5.1.2 <i>Contribuição dos sistemas.....</i>	49
5.1.3 <i>Variáveis de desempenho - Time Trial.....</i>	56
5.2 <i>Eficácia da Suplementação.....</i>	59
5.2.1 <i>Variáveis sanguíneas.....</i>	59
5.2.2 <i>Contribuição dos sistemas.....</i>	65
5.2.3 <i>Desempenho.....</i>	73
5.3 <i>Efeitos ergolíticos.....</i>	74
5.4 <i>Aderência à suplementação.....</i>	77
5.5 <i>Eficácia do desenho duplo cego.....</i>	79
5.6 <i>Segurança da suplementação.....</i>	79
6 DISCUSSÃO.....	82
6.1 <i>Eficácia da suplementação sobre o metabolismo energético.....</i>	82
6.2 <i>Reprodutibilidade do exercício intermitente de indução da acidose</i>	88

6.3 Perfil energético do exercício intermitente.....	90
6.4 Reprodutibilidade do teste de desempenho (<i>Time Trial</i>).....	94
6.5 Eficácia da suplementação sobre o desempenho (<i>Time Trial</i>).....	96
6.6 Eficácia da suplementação sobre o desempenho (<i>Time Trial</i>).....	101
7 CONCLUSÃO	103
REFERÊNCIAS.....	104
ANEXOS.....	116
ANEXO 1 – Termo de consentimento livre e esclarecido.....	116
ANEXO 2 – Ficha de controle alimentar.....	118
ANEXO 3 - Aprovação estudo pelo Comitê de Ética local.....	119
ANEXO 4 – Ficha do diário alimentar de 3 dias.....	120

1 INTRODUÇÃO

Durante o exercício extenuante, principalmente aquele realizado em alta intensidade e curta duração, a manutenção do equilíbrio ácido-base se torna um desafio, de forma que o aumento da acidose afeta negativamente o meio ambiente intracelular e a capacidade contrátil dos músculos ativos levando rapidamente à fadiga (GLADDEN, 2004; HERMANSEN; OSNES, 1972). O corpo possui mecanismos bastante regulados para a manutenção do pH intra e extracelulares dentro dos valores fisiológicos, que incluem tampões químicos sanguíneos, regulação respiratória e regulação renal. Nesse sentido, diversos estudos têm procurado identificar medidas cada vez mais eficazes de manipulação desses mecanismos de controle ácido-base para a regulação do pH durante o exercício, a fim de prolongar o surgimento da fadiga e melhorar o desempenho (ARTIOLI et al., 2007; PRUSCINO et al., 2008; SMITH et al., 2009).

Dentre as diversas estratégias de tamponamento estudadas, as de caráter nutricional têm se mostrado potencialmente ergogênicas, sobretudo para os sistemas de tamponamento constituídos pelo bicarbonato, pelos fosfatos, por proteínas e aminoácidos (DAVEY, 1960; GLEDHILL, 1984). Os sistemas bicarbonato e aminoácidos são especialmente interessantes de serem investigados, uma vez que exercem seu principal efeito tampão através de mecanismos supostamente semelhantes, porém em locais diferenciados. Ou seja, o sistema bicarbonato é o mais importante tampão sanguíneo, enquanto o tamponamento por aminoácidos ocorre principalmente no meio intracelular (LANCHA-JUNIOR et al., 2015).

No que se refere aos aminoácidos, um progresso recente nessa área se origina dos estudos de Harris et al. (2006) e de Hill et al. (2007), nos quais observaram que a suplementação com beta-alanina aumentou o conteúdo muscular de carnosina e o desempenho durante o exercício realizado em alta intensidade. A carnosina (beta-alanil-L-histidina) é um dipeptídeo intracelular citoplasmático encontrado em altas concentrações no músculo esquelético, cujo efeito mais bem documentado é o de manutenção do equilíbrio ácido-base intracelular (DAVEY, 1960; HARRIS et al., 1990; TANOKURA; TASUMI; MIYAZAWA, 1976).

O músculo esquelético, entretanto, é incapaz de captar a carnosina do meio extracelular (HILL et al., 2007), de forma que a síntese endógena de carnosina é dependente das concentrações musculares de beta-alanina e L-histidina. A

disponibilidade de beta-alanina na célula muscular, por sua vez, parece ser o ponto limitante da síntese de carnosina em humanos, tendo em vista a maior concentração plasmática de L-histidina e a sua maior afinidade pela carnosina sintase, enzima que sintetiza carnosina a partir da L-histidina e beta-alanina (HILL et al., 2007). De fato, estudos têm mostrado efeito ergogênico da suplementação de beta-alanina para as modalidades esportivas cujo desempenho é limitado pela queda do pH intramuscular (SAUNDERS et al., 2012; SMITH et al., 2009; VAN THIENEN et al., 2009).

A existência de alguns resultados controversos, no entanto, indicam que o efeito ergogênico do aumento da capacidade tamponante talvez seja melhor observado em exercícios com demanda energética extremamente elevada e com duração superior a 60 segundos (DERAVE et al., 2007; KENDRICK et al., 2008; KERN; ROBINSON et al., 2011), o que evidencia a necessidade de protocolos de investigação cujos modelos de exercícios adotem características semelhantes a essas.

Há na literatura diversos estudos demonstrando que a suplementação de bicarbonato de sódio leva a alcalose extracelular através do aumento das concentrações de bicarbonato e, conseqüentemente, do pH sanguíneo (BISHOP et al., 2004; COSTILL et al., 1984; GAITANOS et al., 1991; INBAR et al., 1983). O aumento da alcalose extracelular gera maior efluxo dos íons H^+ do músculo para o sangue, onde são tamponados (GRANIER et al., 1996; MAINWOOD; WORSLEY-BROWN, 1975). A atenuação do acúmulo de H^+ no músculo ativo minimiza os efeitos da acidose sobre a ressíntese de adenosina trifosfato (ATP) pelo sistema glicolítico, aprimorando assim o processo contrátil e retardando a fadiga durante o exercício de alta intensidade (SUTTON; JONES; TOEWS, 1981). De fato, alguns trabalhos observaram aumento significativo do lactato sanguíneo após indução da alcalose (ARTIOLI et al., 2006, 2007; HORSWILL et al., 1988; WILKES; GLEDHILL; SMYTH, 1983) e efeito ergogênico sobre o desempenho de atividades intermitentes e de alta intensidade (ARTIOLI et al., 2007; PRUSCINO et al., 2008; VAN MONTFOORT et al., 2004; ZAJAC et al., 2009). Hollidge-Horvat et al. (2000) observaram, ainda, que a indução da alcalose aumentou a utilização do glicogênio muscular, a quebra da fosfocreatina (CP) e o acúmulo de fosfato inorgânico (Pi).

Percebe-se assim, que pelo menos do ponto de vista teórico, o aumento de carnosina muscular e o aumento do bicarbonato plasmático são potencialmente sinérgicos enquanto recursos ergogênicos. Isso porque ambos mostraram-se

efetivos em atividades com os mesmos padrões de solicitação metabólica, apesar dos locais de ação não serem os mesmos. Conjuntamente, o bicarbonato exerce seu efeito de atenuação da acidose intramuscular de maneira indireta, já que se trata de um tampão extracelular, enquanto a carnosina é um tampão intracelular cuja ação é direta.

Alguns poucos estudos investigaram o efeito da suplementação combinada de beta-alanina e bicarbonato de sódio e os resultados encontrados sobre o desempenho nestes estudos são divergentes, demonstrando tanto a presença (TOBIAS et al., 2013), como a ausência da eficácia da combinação de ambas as substâncias (DE SALES PAINELLI et al., 2013; SAUNDERS et al., 2014), enquanto outros reportam, ainda, melhoras apenas de um dos suplementos (BELLINGER et al., 2012; DANAHER et al., 2014). Dentre as principais limitações apresentadas por estes estudos destacam-se; 1) a utilização de protocolos de exercícios até a exaustão (SALE et al., 2011), os quais não têm boa correspondência com o tipo de solicitação na maioria dos esportes; 2) realização de apenas uma única sessão de familiarização (TOBIAS et al., 2013), o que pode prejudicar a avaliação do verdadeiro efeito da suplementação devido ao efeito de aprendizado do teste; 3) ausência de reprodutibilidade dos dados (MERO et al., 2013); 4) utilização de modelos *crossover* com desenho uni-cego (BELLINGER et al., 2012); 5) ausência ou falha no controle de dados sanguíneos (DE SALES PAINELLI et al., 2013); 6) ausência ou falha no controle do padrão alimentar dos atletas (DUCKER; DAWSON; WALLMAN, 2013); 7) ausência de verificação da eficácia do vendamento (HOBSON et al., 2013).

Cabe destacar, ainda, que os protocolos utilizados nestes estudos adotaram modelos de exercícios “abertos”, ou seja, a intensidade e o trabalho total não foram controlados, de modo que qualquer alteração dessas variáveis durante o exercício altera a contribuição percentual dos sistemas energéticos, o que dificulta a interpretação dos dados, uma vez que não é possível distinguir os efeitos indiretos da suplementação sobre o metabolismo. A utilização de um modelo de exercício “fechado”, isto é, com controle da intensidade e trabalho constante, permitiria uma melhor comparação dos possíveis efeitos da suplementação sobre a contribuição dos sistemas energéticos.

No entanto, o efeito da ingestão de beta-alanina isolada ou em associação com o bicarbonato de sódio sobre a utilização dos sistemas de transferência de

energia não estão completamente esclarecidos. Higgins, James e Price (2013) observaram melhora da capacidade do exercício em cicloergômetro a 100% da potência aeróbia máxima após a suplementação de bicarbonato de sódio, entretanto, os autores não investigaram os mecanismos associados ao melhor desempenho e as razões apresentadas tiveram como base argumentos unicamente especulativos. De modo semelhante, Sale et al. (2011) encontraram melhora significativa de 14% da capacidade de exercício em bicicleta a 110% da potência aeróbia máxima após a suplementação de beta-alanina, o que não ocorreu após a suplementação de bicarbonato de sódio. Segundo os autores, a explicação mais provável da eficácia da ingestão de beta-alanina foi o aumento da capacidade tamponante intramuscular e menor inibição da atividade glicolítica, porém, nenhuma determinação direta dos efeitos da carnosina sobre o metabolismo energético muscular foi realizada.

É notória a dificuldade de grande parte dos estudos em confirmarem tais argumentos e as razões são diversas e inerente à pergunta de cada estudo, entretanto, é evidentemente clara as limitações das técnicas utilizadas para determinação da contribuição dos sistemas energéticos, como por exemplo, a característica invasiva de múltiplas biópsias musculares. di Prampero e Ferretti (1999) demonstraram a possibilidade de estimar a contribuição dos sistemas energéticos através do consumo de oxigênio e da curva de lactato mensurados antes, durante e após o exercício. Recentemente, diversos estudos têm utilizado dessa técnica para determinar a utilização dos sistemas energéticos em vários modelos de exercício (ARTIOLI et al., 2012; BERTUZZI et al., 2007; CAMPOS et al., 2012; MELLO et al., 2009). O caráter pouco invasivo que compõem metodologias dessa natureza permite diversas abordagens, dentre elas, a de explorar universos amostrais ampliados, o que aumenta o poder estatístico, ao mesmo tempo em que contribui para o alcance de resultados mais consistentes.

Embora o conhecimento da contribuição relativa dos sistemas energéticos para o total de energia necessária para a atividade, seja um importante aspecto a ser considerado no estudo da demanda metabólica durante o exercício, a literatura ainda carece de estudos que investiguem o perfil energético em exercícios intermitentes bem como os efeitos de ergogênicos nutricionais associados. Franchini et al. (2011), por exemplo, observaram que um teste físico que simula as exigências metabólicas de uma luta de judô apresenta maior contribuição do sistema ATP-CP

($42.3 \pm 5.9\%$), quando comparado aos sistemas oxidativo ($28.2 \pm 2.9\%$) e glicolítico ($29.5 \pm 6.2\%$), enquanto Lopes-Silva et al. (2015) verificaram uma maior participação do metabolismo glicolítico durante uma luta simulada de *taekwondo* quando os voluntários suplementaram com cafeína. O conhecimento do perfil energético de um determinado esporte é fundamental tanto para os atletas como para a comissão técnica no aprimoramento dos modelos de treinamento e para a escolha de estratégias e recursos ergogênicos nutricionais mais eficientes a fim de melhorar o desempenho.

A realização de mais estudos com a suplementação de beta-alanina combinada ou não com bicarbonato de sódio possibilita que os atletas e praticantes de atividade física em geral tenham acesso tanto à comprovação da eficácia, como a dados consistentes sobre a dosagem, a segurança e os efeitos colaterais correlacionados. Isso é particularmente importante, porque trata-se também de dois compostos que não fazem parte da lista atual de substâncias proibidas da agência mundial de controle *anti-doping* (WORLD ANTI-DOPING AGENCY, 2016), o que favorece a aplicação ou a investigação dos efeitos em situações reais de competição.

Em especial para a beta-alanina, o interesse e a procura tanto por informações como pelo suplemento *per se*, tem aumentado substancialmente devido às descobertas recentes dos efeitos sobre o desempenho. Entretanto, o acesso à beta-alanina ainda é limitado e a comercialização dentro do território brasileiro, por exemplo, ainda não é permitida. Na medida em que houver a ampliação do entendimento dos reais efeitos, através de estudos que confirmem a eficácia e segurança da suplementação, espera-se acesso mais facilitado à população de modo geral. Em contrapartida, o bicarbonato de sódio é um suplemento facilmente encontrado, de baixo custo e de fácil manipulação, o que garante benefícios a uma ampla categoria de atletas envolvidos em atividades intermitentes de alta intensidade.

Em razão do que foi apresentado até aqui, nossa hipótese é de que a suplementação isolada de beta-alanina e bicarbonato de sódio resultará no maior controle ácido-base resultando num melhor desempenho do exercício de alta intensidade através da maior participação do sistema glicolítico, e que a coingestão dos suplementos terá efeito aditivo destes resultados devido a uma proteção aumentada contra a acidose intra e extracelular.

2 REVISÃO DE LITERATURA

Nesta sessão, serão apresentados os principais tópicos que nortearam a realização deste estudo. Para tanto, o conjunto de informações apresentadas a seguir, foi organizado com base em uma estrutura direcionada a três grandes eixos principais relacionados aos fatores e elementos que compõem o exercício de alta intensidade.

Primeiramente, serão apresentadas as principais alterações no metabolismo energético muscular e no sistema de transferência de energia em decorrência do exercício de alta intensidade, abordando conceitos e estudos clássicos que fundamentaram os achados na literatura sobre o tema.

Em um segundo momento, será discutido o efeito do exercício de alta intensidade sobre o equilíbrio ácido-base, os principais mecanismos de tamponamento intra e extracelulares, bem como o efeito da utilização de estratégias nutricionais, sobretudo da ingestão de beta-alanina e bicarbonato de sódio, para indução da alcalose e os respectivos efeitos sobre o desempenho no exercício.

Por fim, serão abordadas as possibilidades e benefícios esperados da suplementação combinada de beta-alanina e bicarbonato de sódio e o estudo da avaliação das alterações no sistema de transferência de energia através da utilização do consumo de oxigênio e da concentração de lactato sanguíneo.

2.1 Metabolismo energético muscular durante o exercício de alta intensidade

O músculo esquelético compõe uma parte do tecido muscular humano que é altamente especializado em transferência de energia. As contrações musculares ocorrem pela ação de uma série de reações químicas que necessitam de energia livre fornecida pelas moléculas de adenosina trifosfato (ATP). Durante o ciclo de contração muscular, quando uma molécula de ATP é hidrolisada, a energia armazenada na molécula é liberada por uma reação exergônica típica catalisada pelas ATPases (Ca^{+2} ATPase, $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ ATPase).

Entretanto, os níveis celulares de ATP são bastante limitados (HULTMAN; SPRIET, 1986), levando à necessidade de um fornecimento em tempo real de energia para ser usado no trabalho celular (interação actina-miosina, recaptção de Ca^{+2} no retículo sarcoplasmático, bomba $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ na membrana plasmática, entre outros), principalmente durante o exercício de alta intensidade, quando as demandas energéticas aumentam consideravelmente (CAIRNS, 2006).

No músculo esquelético humano em repouso a concentração de ATP é de aproximadamente 24 mmol/kg de músculo seco (HARRIS; HULTMAN; NORDESJÖ, 1974). Estudos demonstram uma pequena variação na concentração de ATP decorrente do exercício intenso, não excedendo 45% do valor de repouso após uma contração voluntária máxima de curta duração ou em resposta ao estímulo elétrico (BOOBIS; WILLIAMS; WOOTIONS, 1982; JONES et al., 1985). Esses dados sugerem que apenas uma reduzida porção de ATP no músculo está disponível como fonte de energia para a contração muscular *per se*, e que seria suficiente apenas para algumas contrações durante o exercício máximo. Portanto, é mais apropriado compreender o ATP como um mediador energético do que como fonte de energia.

A concentração de creatina fosfato (CP) no músculo esquelético humano, por outro lado, tende a ser três a quatro vezes maior do que a de ATP (McCARTNEY et al., 1986). Comparada à discreta variação do ATP, as concentrações de CP apresentam uma redução muito maior decorrente do exercício intenso. Alguns estudos demonstram diminuições de aproximadamente 80% da concentração de CP após o exercício dinâmico (HULTMAN; BERGSTROM; McLENNAN-ANDERSON, 1967; McCARTNEY et al., 1986), contração isométrica (SAHLIN; REN, 1989) ou estimulação elétrica entre 30 segundos e 2 minutos (HULTMAN; SJOHOLM, 1983). Esses resultados sugerem que a CP possui uma importante participação durante o exercício que exige uma rápida e elevada demanda energética. A ressíntese do ATP via CP é mediada pela creatina quinase a partir de moléculas de adenosina difosfato (ADP) e íons de H^+ .

As elevadas concentrações de glicogênio no músculo esquelético, entretanto, conseguem fornecer uma quantidade de energia muito maior do que os estoques de CP. O processo pelo qual a glicogenólise anaeróbia contribui para a ressíntese de ATP durante o exercício de alta intensidade é facilmente marcada por altas concentrações de lactato muscular. Estudos demonstram taxas de produção de lactato muscular entre 2-5 mmol/kg de músculo seco por segundo durante o exercício máximo em corrida e bicicleta durante 30 segundos (BOOBIS; WILLIAMS; WOOTIONS, 1982; JACOBS et al., 1983; NEVILL et al., 1989).

O glicogênio é oxidado em reações catalisadas por diversas enzimas, dentre elas, a glicogênio fosforilase e a fosfofrutoquinase, enquanto a formação do lactato é catalisada pela lactato desidrogenase. Tais enzimas possuem alta atividade durante o exercício intenso, o que leva a sugerir que há elevada taxa de oxidação do

glicogênio para formação do lactato. Entretanto, as concentrações do glicogênio muscular não parecem reduzir em quantidades tão elevadas (14 – 30%) quando comparadas ao repouso (HULTMAN; SPRIET, 1986). Nessa perspectiva, estudos sugerem que a atividade das enzimas participantes do sistema glicolítico possa ser afetada e até mesmo regulada pela elevada produção de metabólitos decorrentes das reações de transferência de energia (CHASIOTIS; SAHLIN; HULTMAN, 1982).

O sistema oxidativo se caracteriza por reações catabólicas geradoras de energia nas quais o oxigênio funciona como o aceitor final de elétrons na cadeia respiratória e se combine com o hidrogênio para formar água (CASABURI et al., 1978). A quantidade de oxigênio disponível para o metabolismo aeróbio é fundamental para o fornecimento de energia, que tem como base a oxidação dos substratos energéticos na forma de carboidratos, lipídeos e proteínas. O metabolismo oxidativo envolve uma série de reações químicas com a participação de diversas enzimas do sistema glicolítico e que regulam a atividade mitocondrial como a piruvato desidrogenase e citrato sintase.

2.1.2 Contribuição dos sistemas energéticos durante o exercício de alta intensidade

O fornecimento de energia durante o exercício ocorre a partir de três sistemas integrados, sendo eles; anaeróbio alático (ATP-CP), aeróbio (oxidativo) e anaeróbio láctico (glicolítico) (detalhes em GASTIN, 2001).

A importância da contribuição do sistema ATP-CP nos segundos iniciais de um exercício de alta intensidade é confirmada por estudos que observaram uma depleção de aproximadamente 60-70% da CP após 11 segundos de exercício em comparação ao repouso (BOOBIS; WILLIAMS; WOOTIONS, 1982; HIRVONEN et al., 1987; JONES et al., 1985). Tem sido reportado que a taxa inicial de ressíntese de ATP via CP mensurado durante exercícios de contração voluntária máxima ou estimulação elétrica é de 8 mmol de ATP/kg de músculo seco por segundo, o que representaria uma contribuição percentual de aproximadamente 60% do gasto energético total nos primeiros 4 segundos de contração muscular, (BERGSTROM; GUARNIERI; HULTMAN, 1971; HULTMAN; SJOHOLM, 1983).

Originalmente se imaginou que a resíntese de CP continuava ao longo de uma única curva exponencial (fração alática do débito de oxigênio) durante a recuperação de um exercício de alta intensidade, com o tempo médio estimado para

metade da ressíntese de CP em torno de 25-30 segundos (MARGARIA et al., 1969). Mais tarde, entretanto, se observou que o *time-course* da ressíntese de CP exibiu um comportamento bifásico, com componentes rápidos e lentos (HARRIS et al., 1976), com a metade do tempo de ressíntese sendo de aproximadamente 22 e 170 segundos para os componentes rápidos e lentos, respectivamente.

Nesse sentido, a taxa de ressíntese de CP dentro da célula muscular parece ser regulada primeiramente pela disponibilidade de oxigênio. Harris et al. (1976) observaram que a oclusão da circulação exerceu maior efeito inibitório à ressíntese de CP do que a variação do pH intramuscular. A ressíntese de CP também foi maior quando células musculares foram incubadas com o aumento da concentração de oxigênio (SAHLIN; HARRIS; HULTMAN, 1979). A maior disponibilidade de oxigênio pode explicar, em parte, a elevada contribuição do sistema ATP-CP em atividades intermitentes e de alta intensidade com duração superior a 3 minutos (FRANCHINI et al., 2011; LOPES-SILVA et al., 2015). As pequenas pausas ou intervalo durante o exercício, ainda que relativamente curto, parece contribuir para um melhor fluxo sanguíneo muscular e ressíntese de CP.

No início da atividade muscular intensa, a quantidade de oxigênio disponível para as células musculares na forma de oxihemoglobina é muito pequena. Biópsias realizadas no quadríceps femoral de humanos determinaram uma quantidade em torno de 2,2 mmolO₂/kg de músculo seco, o que seria suficiente para a ressíntese de 12 mmol de ATP/kg de músculo seco (HARRIS et al., 1975). Estima-se que a contribuição do oxigênio muscular local represente 8-9% da capacidade aeróbia total calculada pelo déficit máximo acumulado de oxigênio (MAOD) (HERMANSEN; MEDBÖ, 1984; MEDBÖ et al., 1988).

Estudos clássicos que investigaram exercícios intermitentes e de curta duração (10-15 s de exercício e 10-30 s de recuperação) verificaram aumento do consumo de oxigênio e elevada participação do metabolismo oxidativo para a contribuição energética (ESSÉN; HAGENFELDT; KAIJSER, 1977; MARGARIA et al., 1969). Entretanto, durante o exercício de alta intensidade e curta duração (< 30 s) o total de oxigênio utilizado pelo músculo ativo para a ressíntese de ATP é relativamente pouco, devido a ajustes iniciais na ventilação, débito cardíaco e transporte de oxigênio.

A contribuição aeróbia para atividades de alta intensidade com duração até 30 s parece ser de aproximadamente 20-40% na corrida e no ciclismo, enquanto para

aquelas com duração ligeiramente maior (30 – 90 s), o metabolismo oxidativo contribui ainda mais, em torno de 50 – 60% do gasto energético total. (HERMANSEN; MEDBO, 1984; MEDBO et al, 1988; SERRESSE et al., 1988). Este aumento na participação do sistema oxidativo com o tempo durante o exercício de alta intensidade é normalmente atribuído à inibição da oxidação do glicogênio muscular na via glicolítica e aumento da utilização de outros substratos como os triglicerídeos intramusculares (MCCARTNEY et al, 1986).

Em exercícios de alta intensidade há acúmulo considerável de diversos metabólitos, dentre eles, ADP, fosfato inorgânico (Pi), e lactato intra e extracelular como resultado da glicogenólise. De fato, a taxa de utilização do glicogênio no músculo ativo aumenta exponencialmente em função da intensidade do exercício. Estudos observaram grande variação nas taxas de utilização do glicogênio calculada na ordem de 2,5 – 6,3 mmol unidades glicosil/kg de músculo seco por segundo. Isso representa uma contribuição entre 30 e 65% do total de energia utilizada para a ressíntese de ATP durante os 10 primeiros segundos de exercícios de alta intensidade (BOOBIS; WILLIAMS; WOOTIONS, 1982; JACOBS et al., 1982; JONES et al., 1985). Entretanto, é estimado que a taxa máxima da glicólise anaeróbia durante o exercício seja de 1,5-2,2 mmol unidades glicosil/kg por segundo, para uma formação de aproximadamente 6,6 mmol de ATP/kg de músculo seco (HULTMAN, 1986).

A partir do aumento da utilização do glicogênio, observa-se também, um maior acúmulo de lactato muscular. O aumento do lactato é normalmente associado a maior atividade do sistema glicolítico bem como com a redução do pH intramuscular o que afeta a atividade das enzimas ativas no metabolismo glicolítico que são sensíveis à queda do pH intramuscular. Parece que a acidose resultante do exercício de alta intensidade, particularmente aquela observada em estágios finais do exercício, seja responsável pela redução das taxas de glicogenólise, refletindo na menor contribuição do sistema glicolítico (GAITANOS et al., 1993).

2.2 Aspectos metabólicos do controle ácido-base durante o exercício de alta intensidade

Em exercícios de alta intensidade observa-se grande acúmulo intramuscular de diversos metabólitos, dentre os quais se destacam: moléculas de ADP, Pi, lactato e íons H⁺ (BROCH-LIPS et al., 2007; DAWSON; GADIAN; WILKIE, 1978). Alguns

autores sugerem que o lactato *per se* não exerce nenhum efeito direto sobre os processos contráteis ou de transferência de energia, mas que a elevada produção de H^+ resultante do exercício intenso tem capacidade de inibir enzimas do sistema glicolítico, além de prejudicar diversas etapas do processo contrátil levando à fadiga (FITTS, 1994). A Tabela 1 apresenta valores de pK de intermediários da via glicolítica, que apesar de serem estruturas de ácido carboxílico, a molécula não está na forma de ácido não sendo, portanto, uma fonte de prótons (ROBERGS; GHIASVAND; PARKER, 2004).

Embora ainda haja bastante controvérsia na literatura sobre o exato mecanismo de fadiga e os papéis desses metabólitos, existem diversas evidências *in vivo* de que a acidose intramuscular é uma das principais causas da fadiga em exercícios de alta intensidade (FITTS, 1994). Tendo em vista a importância da regulação do pH durante o exercício de alta intensidade, estratégias que contribuam para a manutenção do equilíbrio ácido-base tornam-se potencialmente ergogênicas.

Os mamíferos possuem mecanismos diversos para manutenção do pH intra e extracelulares dentro dos valores fisiológicos, que incluem tampões químicos sanguíneos, regulação respiratória e regulação renal. Os sistemas de tamponamento sanguíneo são constituídos pelo sistema bicarbonato, pelos fosfatos e por proteínas e aminoácidos. O sistema bicarbonato é o mais importante tampão sanguíneo extracelular. Os fosfatos, especialmente o $H_2PO_4^-$ e o HPO_4^- , exercem seu principal efeito tampão no meio intracelular, onde o pH é mais próximo de seu pK (FITTS, 1994). O tamponamento por proteínas, peptídeos e aminoácidos ocorre também principalmente no meio intracelular, mas é realizado apenas pelas moléculas que apresentam grupos imidazóis (DAVEY, 1960).

O grupo químico imidazol é encontrado nos resíduos de histidina das proteínas, nas moléculas livres de L-histidina e nos dipeptídeos que contêm histidina, tais como carnosina, anserina e balenina (ABE, 2000). O fato do pK dos grupos imidazóis ser bastante próximo dos valores fisiológicos de pH intracelular faz com que todos os compostos que contenham esse grupo, cujo nitrogênio presente em seu anel pode ser protonado em pH fisiológico, sejam potenciais tampões intracelulares (ABE, 2000).

A Tabela 1 apresenta os valores de pK de substâncias consideradas potencialmente tamponantes. Entretanto, tendo em vista que o bicarbonato exerce seu efeito tamponante intramuscular de forma indireta, nota-se que apenas a

carnosina é encontrada em humanos, além de apresentar o valor de pK dentro da faixa de variação do pH intramuscular (HARRIS et al., 2006). Somado ao fato de que o bicarbonato e os fosfatos têm sua disponibilidade para ação tamponante dependente de seu comprometimento com outras reações, a carnosina adquire uma grande importância para a capacidade tamponante intracelular do músculo esquelético (ABE, 2000; HARRIS et al., 2006).

Tabela 1 - Valor de pK para intermediários da glicólise, compostos contendo grupo imidazol e bicarbonato.

Composto tamponantes	pKa
Histidina em proteínas	6,5
L-histidina livre	6,21
Carnosina	7,01
Bicarbonato	6,1
Ácidos carboxílicos intermediários da glicólise	
3-fosfoglicerato	3,42
2-fosfoglicerato	3,42
Fosfoenolpiruvato	3,50
Piruvato	2,50
Lactato	3,87

Adaptado de Abe (2000); Robergs; Ghiasvand e Parker (2004).

2.2.1 Características e função tamponante da Carnosina

A carnosina (β -alanil-L-histidina) é um dipeptídeo intracelular citoplasmático encontrado em altas concentrações no músculo esquelético cujo efeito mais bem documentado é o de manutenção do equilíbrio ácido-base intracelular (DAVEY, 1960; SKULAEHEV, 1978). A carnosina é sintetizada no músculo esquelético (e em alguns outros tecidos que 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 sanguínea, uma vez que a enzima carnosinase presente no aparelho digestório rapidamente hidrolisa o dipeptídeo (ASATOOR et al., 1970).

Segundo Bauer e Schulz (1994), o músculo esquelético é capaz apenas de sintetizar a carnosina, não sendo, entretanto, capaz de captá-la do meio extracelular. O músculo esquelético não produz nenhum dos precursores da carnosina, tendo em vista que a histidina é um aminoácido essencial e a beta-alanina tem sua síntese endógena restrita aos hepatócitos (MATTHEWS; TRAUT, 1987). Dessa forma, a síntese de carnosina é dependente da captação desses aminoácidos pelas células musculares.

A enzima carnosina sintase exibe afinidade muito maior para a histidina (K_m aproximado de 16,8 μM) (HORINISHI; GRILLO; MARGOLIS, 1978) do que para a beta-alanina (K_m varia de 1 a 2,3 mM) (NG; MARSHALL, 1978), além da concentração plasmática e intramuscular de histidina ser muito maior do que a de beta-alanina (HARRIS et al., 2006). Consequentemente, o ponto limitante da síntese de carnosina em humanos parece ser a disponibilidade de beta-alanina na célula muscular. Considerando que a síntese endógena de beta-alanina realizada pelos hepatócitos é bastante limitada, intervenções nutricionais que aumentem a concentração deste aminoácido ao músculo esquelético tornam-se estratégias potencialmente promissoras.

2.2.2 Efeito da suplementação de beta-alanina no conteúdo de carnosina e sobre o desempenho do exercício de alta intensidade

Harris et al. (2006) investigaram se a suplementação de beta-alanina seria capaz de aumentar o conteúdo intramuscular de carnosina. Os autores investigaram diferentes protocolos de suplementação crônica de beta-alanina, totalizando: 1) 3,2 g/dia ou o equivalente a 4 doses diárias de 10 mg/kg e 2) 4 g/dia na primeira semana seguido por 6,4 g/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 diária foi mais efetivo (aumento de 65% e aumento de 40%, respectivamente) (HARRIS et al., 2006).

Posteriormente, outros estudos também confirmaram a eficácia desse esquema de suplementação no aumento da carnosina intramuscular (HILL et al., 2007; KENDRICK et al., 2008) enquanto outros trabalhos demonstraram que é possível chegar a mesma dose diária total de 6,4 g/dia utilizando o dobro da dose única máxima, ou o equivalente a 1600 g (ou 20 mg/kg de peso corporal),

combinada com a metade de ingestões diárias, desde que sejam utilizadas cápsulas de absorção lenta (HOFFMAN et al., 2006; ZOELLER et al., 2007). Essa estratégia garante menor pico plasmático de beta-alanina e maior tempo de meia-vida, o que permite que os indivíduos tenham de suplementar menos vezes ao dia sem experimentar os sintomas desagradáveis de parestesia.

Os efeitos da suplementação de beta-alanina sobre o desempenho ainda apresentam alguma controvérsia na literatura, mas os dados discrepantes podem ser explicados em quase sua totalidade por diferenças nos protocolos de avaliação do desempenho. Pode-se afirmar que os trabalhos que utilizaram testes contínuos com duração menor do que 60 segundos (ex.: corrida de 400 m) (DERAVE et al., 2007), teste de Wingate e saltos verticais por 20 segundos (HOFFMAN et al., 2006) não verificaram efeito ergogênico. Atividades com esse padrão não resultam em um quadro de acidose intramuscular tão extremo (PORTINGTON et al., 1998; WEBSTER et al., 1993) e, conseqüentemente, não favorecem a visualização dos efeitos ergogênicos de substâncias tamponantes (ARTIOLI et al., 2010). Da mesma forma, quando a atividade envolve grupos musculares pequenos, como teste de resistência para flexões do cotovelo (KENDRICK, et al., 2008), a beta-alanina parece não exercer efeito.

Por outro lado, os estudos que utilizaram exercícios contínuos de alta intensidade com duração superior a 60 segundos (STOUT et al., 2007) ou que utilizaram múltiplas séries supra-máximas de exercícios intermitentes nos quais a redução do pH intramuscular é bastante acentuada e verdadeiramente limitante para o desempenho (GRANIER et al., 1996), verificaram que a suplementação de beta-alanina melhora o rendimento. Embora essas informações sejam suficientes para a formulação de hipóteses sobre quais modalidades esportivas poderiam ou não ser beneficiadas pela suplementação de beta-alanina, estudos futuros deverão testar esse suplemento em situações mais próximas possíveis do real em diversos ambientes competitivos.

2.2.3 Efeitos da suplementação de bicarbonato de sódio no desempenho do exercício de alta intensidade

Conforme mencionado anteriormente, o sistema bicarbonato é o principal tampão extracelular e, a exemplo do que foi discutido para a carnosina, estratégias que resultem em sua elevação são potencialmente ergogênicas. De fato, há

algumas décadas experimentos têm demonstrado os efeitos ergogênicos da ingestão de bicarbonato de sódio pré-exercício sobre o desempenho (COSTILL et al., 1984; GAO et al., 1988). Porém, outros estudos não demonstraram qualquer efeito positivo (HORSWILL et al., 1988; WEBSTER et al., 1993). Provavelmente o que provocou tais resultados conflitantes foram os diferentes protocolos de ingestão e de exercícios adotados.

Assim como ocorre para os tampões intracelulares, os efeitos ergogênicos do bicarbonato parecem ser mais eficientes para consecutivas séries supra-máximas de exercícios intermitentes, intercalados por curtos períodos de recuperação (ARTIOLI et al., 2007; LAVENDER; BIRD, 1989), ou para exercícios que durem, no mínimo 60 segundos e, no máximo 5 minutos (HORSWILL, 1995). À medida que aumenta a duração do exercício, diminui a sua intensidade e seu caráter acidótico, diminuindo também a eficácia do bicarbonato.

Quando se adota esquema de suplementação aguda, a dose mínima para causar aumento suficiente na concentração plasmática de bicarbonato a ponto de favorecer o desempenho gira em torno de 0,3 g/kg de massa corporal (MCNAUGHTON, 1992). Doses superiores a essa não são mais eficientes na melhora do desempenho, mas aumentam as chances de que ocorram perturbações gastrointestinais, como vômitos e diarreia. Por outro lado, doses iguais ou inferiores a 0,2 g/kg não produzem melhoras tão significativas no desempenho quanto as de 0,3 g/kg (MCNAUGHTON, 1992). Kindermann, Keul e Huber (1977) utilizaram doses bem inferiores a essa, o que certamente pode explicar os resultados desses estudos em que o desempenho não foi melhorado.

A dose aguda deve ser ingerida cerca de 60 minutos antes da atividade para que seja observado um pico de elevação do bicarbonato sanguíneo (POTTEIGER et al., 1996; SAUNDERS et al., 2014). Essa questão pode ser problemática em competições cujo início seja difícil de ser previsto, haja vista que os efeitos do bicarbonato parecem diminuir cerca de quatro horas após a ingestão (ARTIOLI et al., 2006).

Uma alternativa para dificuldades como a previsão do início da competição e os possíveis distúrbios gastrointestinais é a suplementação crônica de bicarbonato de sódio. Alguns estudos demonstraram que essa estratégia resulta em indução crônica de alcalose metabólica com elevação do bicarbonato sanguíneo por períodos prolongados (DOUROUDOS et al., 2006; MCNAUGHTON; THOMPSON, 2001).

Embora as doses diárias sejam mais elevadas em relação à ingestão aguda (~500 mg/kg e ~300 mg/kg, respectivamente), o protocolo de ingestão crônica tende a não ser bem tolerado porque a dose total proporciona uma quantidade muito maior de cápsulas para serem ingeridas ao longo do dia. Geralmente o período de suplementação de 5 a 7 dias é suficiente para aumentar a concentração sanguínea de bicarbonato e promover melhoras no desempenho (DOUROUDOS et al., 2006). No entanto, a efetividade desse modo de suplementação no aumento do desempenho parece ser a mesma do protocolo de ingestão aguda (MCNAUGHTON et al., 1999).

2.2.4 Mecanismos de ação do bicarbonato

Todos os estudos supracitados observaram valores plasmáticos significativamente elevados de pH e de bicarbonato sanguíneos após a ingestão de bicarbonato de sódio. Efeitos controversos têm sido encontrados com relação à concentração de lactato. Enquanto alguns trabalhos observaram significativo aumento do lactato sanguíneo após indução de alcalose (ARTIOLI et al., 2006; WILKES; GLEDHILL; SMYTH, 1983), outros encontraram apenas uma tendência não significativa ou nenhuma diferença entre os tratamentos (KINDERMANN; KEUL; HUBER, 1977; WEBSTER et al., 1993).

Por meio de uma biópsia, Bouissou et al. (1988) observaram que, no momento da fadiga, a concentração muscular de lactato era de 31,7 mM para o grupo que ingeriu a solução alcalina e de 17 mM para o placebo, indicando maior capacidade de produção muscular de lactato. Costill et al. (1984) também realizaram uma biópsia muscular após o exercício e viram que o pH na fadiga era 6,81 para o grupo que ingeriu bicarbonato e 6,73 para o controle, indicando uma discreta melhora na manutenção do equilíbrio ácido-base. Esses dados permitem afirmar que a alcalose metabólica induzida permite maior utilização do sistema glicolítico, haja vista a maior concentração de lactato muscular na condição de alcalose, com melhor manutenção do equilíbrio ácido-base intramuscular.

Devido à relativa impermeabilidade do sarcolema ao bicarbonato, a hipótese de ação tamponante desta substância dentro da célula é refutada (MAINWOOD; CECETTO, 1980). No entanto, a ingestão de bicarbonato de sódio causa um aumento da concentração plasmática de bicarbonato, o que gera maior efluxo dos íons H^+ do músculo para o sangue, onde são tamponados (ARTIOLI et al., 2007;

HOLLIDGE-HORVAT, 2000). A maior concentração de lactato pode ser explicada, dentre outros fatores, pelo aumento na produção de lactato pelo músculo (BOUISSOU et al., 1988), o que seria possível pelo aumento da atividade de enzimas como glicogênio fosforilase, fosfofrutoquinase e lactato desidrogenase (ARTIOLI et al., 2007). Embora Hollidge-Horvat et al. (2000) tenham demonstrado que a ingestão de bicarbonato de sódio resulte em maior atividade da enzima glicogênio fosforilase com consequente aumento na utilização de glicogênio, muitos dos mecanismos que têm sido sugeridos para explicar os efeitos da alcalose ainda permanecem desconhecidos.

Estudos realizados por Sahlin, Harris e Hultman (1975) indicaram que a ressíntese de CP está relacionada tanto com o oxigênio disponível quanto com o transporte de H^+ para fora do músculo. Balson et al. (1992) afirmam que a taxa de ressíntese de CP pós-exercício é influenciada pelo pH intramuscular e pelo fluxo sanguíneo. Tendo em vista que o estudo de Costill et al. (1984) demonstrou que a ingestão de bicarbonato é efetiva em atenuar a acidose muscular, é de se esperar que a taxa de ressíntese de CP seja maior, especialmente durante a recuperação, o que seria um grande benefício em atividades que exigem potência.

2.3 Coingestão de beta-alanina, bicarbonato de sódio e determinação da contribuição dos sistemas energéticos

As evidências na literatura demonstram que o aumento das concentrações de carnosina via suplementação de beta-alanina tem uma importante função no aumento da capacidade tamponante intramuscular, que reflete em melhora do desempenho do exercício de alta intensidade. O aumento da capacidade de tamponamento sanguíneo (aumento de bicarbonato e excesso de base) via suplementação de bicarbonato de sódio, também parece favorecer o desempenho, através do aumento do efluxo intramuscular de íons H^+ e maior atividade da via glicolítica.

Nesse sentido, sugere-se que o aumento de carnosina muscular e o aumento do bicarbonato plasmático são potencialmente sinérgicos como recursos ergogênicos. Isso porque ambos se mostraram efetivos em atividades com os mesmos padrões de solicitação metabólica, apesar dos supostos mecanismos de ação não serem os mesmos.

Sale et al. (2011) foram os primeiros a investigarem se a suplementação combinada de bicarbonato de sódio e beta-alanina poderia melhorar o desempenho no exercício. Os voluntários ingeriram 6,4g de beta-alanina ou dextrose durante 28 dias e em seguida, num protocolo *crossover*, consumiram placebo ou bicarbonato de sódio. A eficácia da suplementação na capacidade de exercício foi investigada em um teste até a exaustão em cicloergômetro a 110% da potência aeróbia máxima. Os autores observaram aumento no tempo até a exaustão apenas no grupo que suplementou com beta-alanina sem efeito adicional do bicarbonato.

Algumas limitações deste estudo se referem à utilização do teste até a exaustão, que pode apresentar um elevado coeficiente de variação e grande intervalo de tempo entre a ingestão do bicarbonato de sódio e o início do exercício (~4 horas). Embora tenha havido melhora no tempo para o grupo suplementado somente com beta-alanina, não houve aumento do lactato sanguíneo como resultado de nenhuma intervenção com suplementos, entretanto, os autores atribuem este efeito, a uma maior capacidade tamponante intramuscular da carnosina. Contudo, nenhuma verificação direta deste efeito foi realizada.

A partir dos achados de Sale et al. (2011), outros trabalhos investigaram a coingestão de beta-alanina e bicarbonato e apresentaram resultados conflituosos (Quadro 1) e também não realizaram o estudo dos mecanismos associados. Assim, além do inexplorado potencial de ação ergogênica sinérgica dessas duas estratégias nutricionais, seus efeitos sobre o metabolismo muscular e os mecanismos que levam à melhora do desempenho ainda permanecem amplamente desconhecidos.

2.3.1 Determinação da contribuição dos sistemas energéticos

Um importante aspecto sobre a suplementação de tamponantes, e ainda carente na literatura, é o conhecimento acerca da demanda metabólica durante o exercício, sobretudo, o intermitente e de alta intensidade, bem como a contribuição relativa dos sistemas energéticos a partir do aumento da indução da alcalose. A tecnologia reservada à mensuração do fornecimento de energia para o metabolismo oxidativo progrediu rapidamente, sendo convencionalmente determinado pelo consumo de oxigênio, o que não ocorreu na mesma proporção para os sistemas não oxidativos. Acredita-se que a biópsia do tecido muscular seja um procedimento que permita a análise direta de fatores intermediários do metabolismo anaeróbico (por exemplo, concentração de lactato, CP, glicogênio intramuscular, atividade de

enzimas específicas), fornecendo análise mais precisa da contribuição do sistema anaeróbio (SPRIET, 1995).

Contudo, além de apresentar todas as limitações relacionadas a um teste invasivo, a biópsia ainda assim, representa apenas uma estimativa da capacidade anaeróbia, tendo em vista a dificuldade em realizar a determinação da massa muscular ativa bem como as mudanças nas concentrações dos metabólitos entre a obtenção da amostra e sua respectiva análise (GASTIN, 1994).

Diversos instrumentos têm sido utilizados como alternativa para mensurar a contribuição das vias anaeróbia láctica e aláctica, dentre eles a análise dos componentes inerentes ao consumo de oxigênio nos instantes inicial e final do esforço (GASTIN, 1994; VANDEWALLE; PÉRÈS; MONOD, 1987). Desde o conceito de débito de oxigênio elaborado por Hill & Lupton (1923), no qual identificaram o componente rápido e lento da curva de recuperação, e mais tarde aperfeiçoada por Margaria, Edwards e Dill (1933), atribuindo à característica de débito alático (ausência na formação extra de lactato - ressíntese da CP pela via oxidativa) e débito láctico (processo oxidativo da utilização do lactato) às fases rápida e lenta respectivamente, a análise do consumo de oxigênio nessas fases tem sido amplamente utilizada para a determinação da contribuição dos sistemas energéticos. Nesse sentido, em virtude das suas associações com os sistemas bioenergéticos, as concentrações de lactato também têm sido comumente utilizadas para se estimar a contribuição do sistema glicolítico no exercício físico (BENEKE et al. 2002; BERTUZZI et al., 2007; CAMPOS et al., 2012).

A literatura não elege um método universalmente aceito como padrão ouro para a avaliação do metabolismo anaeróbio (GASTIN, 1994). Entretanto, alguns estudos têm empregado o Déficit Máximo Acumulado de Oxigênio (MAOD) na determinação da contribuição anaeróbia em diversas tarefas esportivas (DUFFIELD; DAWSON; GOODMAN; 2005; OGAWA et al., 2007; SPENCER; GASTIN, 2001). Do ponto de vista metodológico, o cálculo do MAOD é baseado na mensuração do consumo de oxigênio em múltiplos testes de cargas constantes submáximas e supramáximas. Embora o MAOD seja um teste validado sob diversas perspectivas, muitas limitações também tem sido apontadas, dentre elas, o número elevado de testes (entre 6-20 testes) que são necessários para se obter a contribuição anaeróbia (MEDBO et al., 1988; WEBER; SCHNEIDER, 2001).

Quadro 1 - Efeito da suplementação combinada de beta-alanina e bicarbonato de sódio.

Estudo	Participantes	Protocolo suplementação BA	Protocolo suplementação BIC	Tipo de teste de exercício	Efeito combinado	Efeito isolado
DANAHER et al (2014)	8 homens; 26 anos; fisicamente ativos	4,8g/dia x 4 semanas 6,4g/dia x 2 semanas	0,3 g/kg/MC 90 min antes	<i>Sprints</i> repetidos (5x6s) Tempo até exaustão Ciclismo (CCT 110%)	Não	BA no CCT110%
SAUNDERS et al. (2014)	20 homens; 22 anos; fisicamente ativos	6,4g/dia x 4 semanas 3,2g/dia x 1 semana	0,3 g/kg/MC 120 min antes	<i>Sprints</i> repetidos (5x6s) FSINT Ciclismo / Hipóxia	Não	Não
MERO et al. (2013)	13 nadadores; 20 anos; nível nacional e internacional	4,8g/dia x 4 semanas	0,3 g/kg/MC 60 min antes	<i>Time Trial</i> (2x100m) Natação	Não	BIC
HOBSON et al (2013)	20 remadores; 23 anos; nível nacional	6,4g/dia x 4 semanas	0,3 g/kg/MC 4 horas antes	<i>Time Trial</i> (2000 m) Remo	Provável	BA (muito provável)
DE SALLES-PAINELLI et al. (2013)	16 homens e 2 mulheres 20 anos; nadadores	6,4g/dia x 4 semanas e 3,2g/dia x 1 semana)	0,3 g/kg/MC 90 min antes	<i>Time Trial</i> (100/200m) Natação	Provável	BA e BIC 200m

Legenda: BA = beta-alanina; BIC = bicarbonato de sódio; MC = massa corporal; CCT110% = *Cycling capacity test at 110% Wmax*; FSINT - *Football Specific Intermittent Treadmill*.

(Continuação).

Estudo	Participantes	Protocolo suplementação BA	Protocolo suplementação BIC	Tipo de teste de exercício	Efeito Combinado	Efeito Isolado
TOBIAS et al. (2013)	40 homens; 26 anos judô e jui-jitsu	6,4g/dia x 4 semanas	0,5g/kg/MC por 7 dias	<i>Sprints</i> repetidos (4x30s) Wingate membros superiores	Sim	Sim
DUCKER; DAWSON; WALLMAN, (2013)	24 homens; 23 anos atletas de modalidade coletiva	80mg/kg/MC x 28 dias	0,3g/kg/MC 60 min antes	<i>Sprints</i> repetidos (3x6x20m) Corrida	Possível- provável	BA (provável)
BELLINGER et al. (2012)	14 homens; 25 anos; ciclistas treinados	65mg/kg/MC x 28 dias	0,3g/kg/MC 60 min antes	<i>Time Trial</i> (4minutos) Ciclismo	Possível- provável	BIC (provável)
SALE et al (2011)	20 homens; 27 anos; fisicamente ativos	6,4g/dia x 4 semanas	0,3 g/kg/MC 4 horas antes	Tempo até exaustão Ciclismo (CCT 110%)	Provável	BA

Legenda: BA = beta-alanina; BIC = bicarbonato de sódio; MC = massa corporal; CCT110% = *Cycling capacity test at 110% Wmax*; FSINT - *Football Specific Intermittent Treadmill*.

di Prampero & Ferretti (1999), apresentaram um método capaz de expressar em equivalente de oxigênio a energia oriunda do acúmulo de lactato no sangue. Logo, diversos trabalhos empregaram a fase rápida do excesso do consumo de oxigênio após o exercício e a concentração sanguínea de lactato para estimarem as participações do metabolismo anaeróbio alático e lático, respectivamente.

Bertuzzi et al. (2010) demonstraram que um único teste, no qual se levou em consideração o componente rápido do consumo de oxigênio de recuperação e o pico de lactato, foi suficiente para estimar a capacidade anaeróbia em valores semelhantes àqueles determinados pelas múltiplas séries do MAOD. Scott (2006) também combinou a análise do componente rápido do consumo de oxigênio e do pico de lactato para determinar as diferenças na utilização dos sistemas metabólicos durante diferentes tipos de treinamento de força. Mello et al. (2009) demonstraram que o metabolismo aeróbio é predominante (~ 84%) durante uma prova de remo de 2000 m, sendo que a participação entre os sistemas não foi diferente quando a prova foi realizada na água ou simulada em ergômetro. Beneke et al. (2002) confirmaram a característica anaeróbia do teste de Wingate, bem como a maior participação da via glicolítica (20% aeróbio, 30% alático, 50% glicolítico). Campos et al. (2012) concluíram que o treinamento do taekwondo deve ter como objetivo a melhora do sistema anaeróbio alático e aeróbio, tendo em vista que ambos são os maiores responsáveis pela transferência de energia durante a luta (66% aeróbio, 30% alático, 4% lático).

Embora esse método possa representar uma estimativa satisfatória da contribuição dos sistemas, há certamente de se considerar algumas limitações. Primeiramente, os dados tem que ser analisados com cautela, tendo em vista que a demanda metabólica do músculo ativo, não pode ser estimada com base na análise da resposta fisiológica do corpo como um todo. Uma alternativa seria a biópsia do tecido muscular, mas como já mencionado anteriormente, também apresenta limitações.

Outro ponto importante a ser considerado no uso do componente rápido do consumo de oxigênio e da concentração de lactato se refere ao equivalente de oxigênio da concentração de lactato. Como o equivalente de oxigênio da concentração de lactato não representa uma relação estequiométrica exata da formação de lactato e resíntese de ATP, a relação equivalente de $3 \text{ ml O}_2\text{kg}^{-1}\text{mmol}^{-1}$

$^1\text{lactato}^{-1}$ tem sido utilizada de forma empírica para permitir a estimativa da liberação de energia, desde que a concentração de lactato se acumule a uma quantidade acima daquela dos valores basais (DI PRAMPERO; FERRETTI, 1999). Porém, se utilizado o equivalente $5,3 \text{ ml O}_2\text{kg}^{-1}\text{mmol}^{-1}\text{lactato}^{-1}$ (HUNTER; SEELHORST; SNYDER; 2003; MAZZETTI et al., 2007) a estimativa do metabolismo láctico pode ficar superestimada em comparação com $3\text{ml O}_2\text{kg}^{-1}\text{mmol}^{-1}\text{lactato}^{-1}$.

É importante considerar, contudo, a aplicação prática do método e, embora apresente limitações, é uma alternativa importante na determinação dos componentes do metabolismo anaeróbio, tendo em vista a condição mínima de estresse em que o participante é inserido e o fato de ser minimamente invasivo quando comparado a outros métodos.

3 OBJETIVO

O presente estudo investigou duas temáticas ligadas à suplementação de beta-alanina e bicarbonato de sódio, quais sejam: 1) seu potencial enquanto estratégias de aumento da capacidade tamponante como recurso ergogênico em atividade intermitente de alta intensidade; 2) seu potencial na modulação do metabolismo energético.

Mais especificamente, este estudo teve por objetivos:

- a) Verificar os efeitos da beta-alanina, do bicarbonato de sódio ou da combinação de ambos na magnitude de contribuição dos sistemas energéticos;
- b) Comparar os efeitos ergogênicos da beta-alanina, do bicarbonato de sódio ou da combinação de ambos sobre o desempenho do exercício intermitente de alta intensidade;
- c) Comparar os efeitos da beta-alanina, do bicarbonato de sódio ou da combinação de ambos sobre a resposta de lactato plasmático, pH, bicarbonato e excesso de base sanguíneos;
- d) Padronizar um modelo de teste para induzir a acidose durante o exercício;
- e) Caracterizar o perfil energético de um exercício intermitente de indução de acidose;
- f) Padronizar um modelo de teste de desempenho do tipo *Time Trial* para o estudo de protocolos de acidose;
- g) Investigar os efeitos colaterais e da resposta clínica sanguínea após a suplementação de tamponantes e em resposta ao exercício.

4 MÉTODOS

4.1 Participantes

Os voluntários selecionados para este estudo deveriam preencher os seguintes critérios de inclusão: 1) homens entre 18 e 45 anos, saudáveis e sem histórico de doenças crônicas metabólicas ou músculo esqueléticas; 2) ter ao menos três anos de treinamento regular em modalidades de ciclismo, triatlo ou *mountain bike*; 4) ter dedicação mínima de 6h semanais aos treinos utilizando bicicleta; 5) não ter consumido beta-alanina nos últimos 6 meses ou creatina nos 3 últimos meses anteriores ao início da participação na pesquisa. Foram considerados como critérios de exclusão: 1) tabagistas; 4) vegetarianos de qualquer ordem ou praticantes de dieta restritiva a derivados proteicos; 3) potência aeróbia máxima inferior a 300 W. O critério para a escolha do valor mínimo da potência aeróbia máxima teve como base os valores médios encontrados em indivíduos fisicamente ativos durante um estudo de reprodutibilidade, o qual utilizou os valores de potência aeróbia máxima como referência para a carga aplicada no teste de alta intensidade (SAUNDERS et al., 2013).

A divulgação do estudo ocorreu em sua maior parte através de redes sociais, com foco em páginas virtuais relacionadas ao ciclismo, triatlo e *mountain bike* tanto na região metropolitana de São Paulo como nas cidades do interior próximas à capital. Foram também realizados contatos diretos com assessorias de treinamento dessas modalidades, além da colocação de cartazes e panfletos com informações de contato e benefícios da pesquisa nos arredores da Escola de Educação Física da Universidade de São Paulo do campus Butantã. Uma grande procura ocorreu também por indicação pessoal entre os próprios voluntários.

Inicialmente, todos os participantes passaram por uma entrevista para verificação dos requisitos de adequação descritos acima e inclusão no estudo. Receberam, então, explicações completas quanto aos procedimentos, riscos e benefícios que envolviam a sua participação no estudo e assinaram voluntariamente o termo de consentimento (ANEXO 1). Logo após o consentimento à participação, foi mensurada a massa corporal, a estatura e o consumo alimentar, através do recordatório alimentar de 24h (ANEXO 2). A partir de então, os voluntários seguiam à realização dos testes descritos mais adiante. O estudo foi aprovado (ANEXO 3) pelo Comitê de Ética local (nº 2010/01).

Participaram 103 voluntários do sexo masculino com tempo de prática (média $\pm$ desvio padrão) de treinamento em bicicleta de $6,5 \pm 4,0$ anos e tempo de treinos regulares de $8,7 \pm 3,3$ horas/semana que representavam $335 \pm 91,6$ km/semana. Destes, 84 foram randomizados e aleatoriamente designados para um dos 4 grupos abaixo, sendo que 77 completaram todas as etapas do estudo. Na Figura 2, apresentamos o fluxograma da participação dos voluntários.

BA - beta-alanina + dextrose (placebo); n = 19

BIC - bicarbonato de sódio + carbonato de cálcio (placebo); n = 19

BA + BIC - beta-alanina + bicarbonato de sódio; n = 20

PLA - dextrose (placebo) + carbonato de cálcio (placebo); n = 19

Os valores de potência aeróbia máxima e o tempo médio no *Time Trial* obtidos nas sessões de familiarização foram utilizados como critérios de randomização e pareamento de grupos. As características dos voluntários são apresentadas na Tabela 2 e a média do consumo alimentar entre os grupos é apresentada na Tabela 3.

Tabela 2 - Média (desvio padrão) das características dos participantes.

	BA	BIC	BA + BIC	PLA	P
Idade (anos)	38,6 (10,9)	38,6 (9,9)	35, (6,8)	37,7 (4,3)	0,41
Massa corporal (kg)	78,0 (12,9)	76,6 (8,4)	74,8 (9,9)	79,5 (11,7)	0,32
Estatura (cm)	177,3 (7,1)	176,8 (8,5)	178,1 (7,3)	177,5 (9,0)	0,33
VO₂pico (ml.kg⁻¹.min⁻¹)	59,3 (5,4)	59,6 (3,2)	60,2 (4,5)	59,5 (3,6)	0,80
PAM (W)	340,0 (32,8)	329,8 (29,4)	345,0 (26,1)	337,9 (43,0)	0,76
TT (s)	72,0 (13,2)	73,2 (15,7)	73,3 (14,5)	73,8 (14,7)	0,53

Legenda: BA= Beta-alanina (n=19); BIC = Bicarbonato (n=19); BA + BIC = Beta-alanina e Bicarbonato (n=20); PLA = Placebo (n=19); PAM = Potência aeróbia máxima; TT = Média do tempo no *Time Trial* entre as familiarizações.

Tabela 3 - Valores de média (desvio padrão) do consumo alimentar dos voluntários em percentual (%) e em quilograma por quilo de massa corporal (kg/MC) (n=77)

	BA	BIC	BA + BIC	PLA	P
Kcal total	2211 (789)	2190 (776)	2234 (762)	2200 (734)	0,95
Carboidrato (%)	53,7 (5,6)	50,5 (4,3)	52,0 (6,6)	51,5 (4,0)	0,93
Carboidrato (kg/MC)	4,7 (2,0)	4,3 (2,0)	4,0 (2,0)	4,8 (2,0)	0,35
Proteína (%)	18,6 (3,7)	17,2 (2,5)	19,0 (3,2)	18,5 (4,0)	0,86
Proteína (kg/MC)	1,4 (0,7)	1,2 (0,6)	1,4 (0,7)	1,5 (0,7)	0,66
Lipídio (%)	27,6 (3,9)	25,1 (3,1)	26,6 (2,5)	27,3 (3,0)	0,30
Beta-alanina (g)	0,5 (0,3)	0,4 (0,1)	0,5 (0,3)	0,4 (0,2)	0,83

Legenda: BA= Beta-alanina; BIC = Bicarbonato; BA + BIC = Beta-alanina e Bicarbonato; PLA = Placebo; Kcal = Quilocaloria

Figura 2. Fluxograma da participação de voluntários no estudo.

Legenda. BA= Beta-alanina; BIC = Bicarbonato; BA + BIC = Beta-alanina e Bicarbonato; PLA = Placebo.

4.2 Desenho experimental

Foi adotado o modelo duplo-cego, randomizado, de grupos paralelos e controlado por placebo. Os voluntários foram divididos aleatoriamente em quatro grupos constituídos conforme segue: 1) **BA**: beta-alanina + placebo; 2) **BIC**: bicarbonato de sódio + placebo; 3) **BA + BIC**: beta-alanina + bicarbonato de sódio; 4) **PLA**: placebo + placebo. Uma pessoa da equipe não envolvida diretamente com as coletas foi responsável pelos procedimentos de vendamento, aleatorização e alocação dos sujeitos aos grupos experimentais de acordo com o pareamento das variáveis principais deste estudo. Os placebos utilizados para beta-alanina e bicarbonato de sódio foram dextrose e carbonato de cálcio, respectivamente.

Cada voluntário realizou pelo menos cinco visitas ao laboratório em cinco dias diferentes. Na primeira visita, eles foram submetidos a um teste progressivo para determinação da potência aeróbia máxima de membros inferiores e do consumo de oxigênio pico ($\text{VO}_{2\text{pico}}$). Nas visitas seguintes, sendo a segunda e a terceira consideradas “familiarizações” e a quarta e quinta sessões pré e pós-suplementações, respectivamente, todos os procedimentos experimentais foram realizados, a saber: coleta sanguínea em repouso, aquecimento específico na bicicleta por 5 minutos a 100 W com cadência livre acima de 60 rpm, 4 séries intermitentes de 1 minuto (carga de 110% da potência aeróbia máxima alcançada na primeira visita; cadência constante entre 90-100 rpm; descanso passivo de 1 minuto entre cada série), coletas de sangue após cada uma das 4 séries, bem como imediatamente, 3, 5 e 7 minutos após o exercício intermitente.

Houve também análise do consumo de oxigênio durante 5 minutos de repouso, durante todo o período do teste e nos 5 minutos após a finalização do exercício intermitente. Após 10 minutos de recuperação passiva (o voluntário se manteve todo o tempo sentado na bicicleta) depois do exercício intermitente, os participantes realizaram, também na bicicleta, um teste de desempenho do tipo contra-relógio, no qual completaram um trabalho total de 30 kJ no menor tempo possível. Estes procedimentos estão descritos mais detalhadamente adiante.

Houve coletas de sangue imediatamente antes e após este teste. Antes dos testes pré e pós-suplementação também foram coletadas amostras de sangue para análise da segurança clínica da suplementação de beta-alanina. O voluntário poderia escolher o período do dia para realizar os testes (manhã, tarde ou noite),

mas deveria manter sempre o mesmo período em todas as visitas. Os testes eram realizados em salas climatizadas e as condições climáticas se mantiveram durante os testes em $25^{\circ}\text{C} \pm 0,6^{\circ}\text{C}$ de temperatura e $63\% \pm 4,8\%$ de umidade relativa do ar. A hidratação com água era permitida livremente antes de iniciar os testes e no intervalo entre o exercício intermitente e o teste de desempenho.

Os participantes foram orientados a evitarem treinamento intenso e a descansar nas 24h anteriores às visitas, abster do consumo de álcool e cafeína, além de se alimentarem com refeições leves (buscando reproduzir a alimentação da primeira visita), bem como manter a hidratação. Uma nutricionista esteve em constante contato com os voluntários e repassava essas informações nos dias anteriores aos testes. A Figura 1 apresenta o modelo esquemático do desenho e da sessão experimental no estudo.

4.3 Protocolos de suplementação

O período de suplementação foi de 28 dias para a ingestão de beta-alanina ou dextrose (placebo). Os participantes ingeriram 6,4 g/dia, divididos em 4 doses de 1,6g consumidas em intervalos regulares de no mínimo 4 horas entre cada dose. A beta-alanina e o placebo (CarnoSyn™, NAI, San Marcos CA) foram cedidas pela *Natural Alternatives International, Inc.* (NAI) e entregue a cada participante individualmente.

O mesmo suplemento (seja ele beta-alanina ou dextrose) estava distribuído em dois potes idênticos, opacos, na cor branca, selado e contendo na parte externa apenas a etiqueta com a indicação do nome do voluntário. Cada pote continha um total de 120 tabletes na cor branca (quantidade não informada ao voluntário), sendo que cada tablete continha 800mg de beta-alanina ou dextrose. Os tabletes de beta-alanina e de dextrose eram idênticos em aparência.

Adicionalmente à informação verbal, cada voluntário recebeu juntamente com o suplemento uma folha na qual deveriam registrar as doses ingeridas durante o período de suplementação como forma de acompanhamento da ingestão. Os voluntários foram orientados a devolver as folhas de registro da suplementação, juntamente com os potes contendo o restante do suplemento. As informações das folhas de registro juntamente com a contagem dos suplementos restantes foram utilizadas para determinar a aderência dos voluntários à suplementação.

Figura 1. Ilustração esquemática do desenho experimental (A) e da sessão experimental (B).

Legenda: TCLE = termo de consentimento livre e esclarecido; Dieta = avaliação nutricional; PAM = potência aeróbia máxima; FAM = Familiarização; BA ou PLA = suplementação de beta-alanina ou placebo; BIC ou PLA = suplementação de bicarbonato de sódio ou placebo; teste PRE = teste pré-suplementação; teste POS = teste pós-suplementação; VO_2 =consumo de oxigênio. ● = coletas de sangue para parâmetros de saúde; ↓ = coleta de sangue apenas para análise de lactato; ↓ = coleta de sangue para análise de lactato, pH, bicarbonato e excesso de base. Δ = evento ocorre somente no teste pós-suplementação; □ = evento ocorre somente nos testes pré e pós-suplementação.

A beta-alanina em tabletes proporciona liberação mais lenta e gradual da substância na corrente sanguínea, ajudando a diminuir os efeitos de parestesia, muitas vezes observados quando se utiliza cápsulas gelatinosas, mesmo contendo veículos de absorção lenta (Carboximetilcelulose). Isso contribui para aumentar a confiabilidade da característica “duplo cego” do estudo. O protocolo de suplementação adotado é amplamente utilizado por outros estudos e considerado eficaz tanto para o aumento da carnosina intramuscular (DANAHER et al., 2014) quanto para a redução de possíveis sintomas de parestesia decorrentes da suplementação (HOBSON et al., 2013; SAUNDERS et al., 2014).

A suplementação de bicarbonato de sódio e de carbonato de cálcio (placebo) ocorreu ao final dos 28 dias da suplementação de beta-alanina, administrada de forma aguda e no dia do teste pós-suplementação. O bicarbonato de sódio e o carbonato de cálcio, enquanto matéria prima, foram adquiridos e manipulados em lote único de 2000 cápsulas gelatinosas de 1g, na cor branca para cada substância (4000 cápsulas no total), distribuídas em 8 embalagens de 500 cápsulas. A aquisição e a manipulação dos suplementos foram realizadas através da mesma farmácia de manipulação, que já prestou os mesmos serviços em estudos anteriores do nosso laboratório (DE SALES PAINELLI et al., 2013; TOBIAS et al., 2013).

Posteriormente à entrega dos suplementos pela farmácia, o conteúdo de uma amostra aleatória de 5% das cápsulas de cada uma das 8 embalagens foi pesado em balança digital (Shimadzu AUW220D, 0,01mg) para confirmar a quantidade média contida de cada substância nas cápsulas. A quantidade média encontrada nas cápsulas de bicarbonato de sódio foi de $0,995 \pm 0,003\text{g}$ e de $0,994 \pm 0,003\text{g}$ para o carbonato de cálcio. Essas quantidades foram utilizadas para determinar a dosagem de cada voluntário. Tanto o bicarbonato de sódio quanto o placebo tiveram aparência idêntica e foram entregues aos voluntários em embalagens individuais contendo apenas a etiqueta com a identificação do nome do voluntário. A dose administrada foi de $0,3\text{g/kg}$ de massa corporal ingerida no laboratório imediatamente após a coleta de sangue em repouso e 60 minutos antes de iniciar o teste.

A contagem do tempo para início do teste pós-suplementação ocorreu somente após a ingestão de todas as cápsulas. O tempo médio utilizado pelos voluntários para a ingestão das cápsulas foi 2,5 minutos, tendo sido os voluntários previamente orientados a não demorar mais do que 3 minutos. Nenhum voluntário

ultrapassou o tempo determinado. A ingestão ocorreu com acompanhamento visual dos pesquisadores durante todo o tempo. A suplementação aguda de bicarbonato de sódio também eleva as concentrações sanguíneas de bicarbonato em níveis suficientes para identificar a ação de tamponamento sanguíneo e melhora no desempenho, assim como no protocolo de suplementação crônica (REQUENA et al., 2005).

A escolha da suplementação aguda de bicarbonato de sódio ocorreu, sobretudo, com o intuito de aumentar a aderência do voluntário ao modelo experimental. Comparado ao esquema de suplementação crônica, a suplementação aguda proporciona a ingestão de um número expressivamente menor de cápsulas, possibilitando assim, maior conforto ao voluntário e melhorando a confiabilidade da disponibilidade do participante para a suplementação. De fato, pudemos verificar que tanto as queixas como a razão que levavam os voluntários a abandonar estudos anteriores diminuíram em relação ao esquema de suplementação, além do fato de garantirmos, por observação, que o voluntário tomou todo o suplemento.

A desvantagem da utilização do protocolo agudo é que os níveis sanguíneos de bicarbonato retornam aos valores basais em poucas horas. A dosagem de 0,3 g/kg de massa corporal e o intervalo de 60 minutos foram utilizados por outros estudos que observaram aumento significativo na concentração plasmática de bicarbonato a ponto de favorecer o desempenho (HIGGINS; JAMES; PRICE, 2013; MCNAUGHTON, 1992). Doses superiores a essa não são mais eficientes ao desempenho, mas aumentam a possibilidade de ocorrer perturbações gastrointestinais, como vômitos e diarreia (MCNAUGHTON; THOMPSON, 2001).

Imediatamente antes da ingestão do bicarbonato e 60 minutos após (momento imediatamente antes do exercício), os voluntários eram questionados sobre possíveis desconfortos gastrointestinais, no qual apontavam um valor numa escala de 10 pontos, sendo que o valor '0' corresponde à ausência total de sintomas e o valor '10' corresponde a desconforto extremo (PRICE; MOSS; RANCE, 2003).

Ao final do estudo, os voluntários eram questionados sobre a capacidade de distinguir os suplementos que haviam ingerido para que pudessemos verificar a eficácia do vendamento duplo cego. Os cálculos foram realizados através da comparação entre erros e acertos nas respostas dadas pelos voluntários, tendo como base o que eles acreditavam ter ingerido e o que, de fato, foi dado a ele.

4.4 Determinação da potência aeróbia máxima e do VO_{2pico}

Após ciência e consentimento para participação no estudo, os voluntários foram submetidos a um teste incremental de carga para determinar a potência máxima de membros inferiores e o VO_{2pico} . Foi adotado um teste progressivo em bicicleta ergométrica (Lode Excalibur Sport, Groningen Netherlands). Antes de iniciar o teste, o participante podia ajustar livremente as medidas da bicicleta buscando o melhor padrão ergonômico para a realização do exercício. Uma vez definido, as medidas eram registradas no programa (Lode Excalibur) e, então, reproduzidas exatamente em todas as outras visitas. Ao participante era facultada a fixação dos pés ao pedal através da utilização de sapatilhas do tipo *clip* ou fixar os pés por meio de presilhas, sendo que uma vez realizada a escolha, esta deveria ser mantida em todas as demais sessões.

O protocolo adotado foi do tipo 'rampa' semelhante ao utilizado por Sale et al. (2011). Neste protocolo, o voluntário inicia o esforço com a carga de 100 W mantendo a cadência constante entre 90 – 100 rpm. A cada 15 segundos durante o teste a carga foi automaticamente elevada em 6 W até que o voluntário seja incapaz de manter a cadência acima de 60 rpm, indicando o final do teste. A potência aeróbia máxima foi determinada como o valor absoluto de potência registrada no último estágio em que o voluntário se manteve durante 15 segundos completos, antes do fim do teste. Quando o voluntário não finalizou o estágio de 15 segundos, a potência foi relativizada de acordo com o tempo de permanência neste último estágio (produto do tempo permanecido no último estágio pelo valor do incremento aplicado, divididos pelo tempo total do estágio e somados à potência alcançada no estágio anterior).

O VO_{2pico} foi determinado pela maior média móvel de 15 segundos (HOWLEY; BASSETT; WELCH, 1995). O consumo de oxigênio (VO_2) foi mensurado durante todo o teste através de um analisador de gases portátil (K4b₂, Cosmed®, Rome, Italy). O equipamento foi calibrado antes de cada sessão experimental seguindo as normas e recomendações do fabricante, e, como demonstrado em outros estudos (DUFFIELD et al., 2004).

4.5 Protocolo de exercício intermitente

No mínimo 48h após a realização do teste de potência aeróbia máxima, foi realizado um exercício intermitente na mesma bicicleta ergométrica composto por 4

séries de 1 minuto com intervalos de 1 minuto e carga à 110% da potência máxima encontrada no teste anterior. A cadência foi constante durante todo o teste e também semelhante à do teste de potência aeróbia máxima (90-100 rpm). A recuperação entre as séries foi passiva e o voluntário não pôde pedalar ou sair da bicicleta. A padronização do descanso desta maneira teve como intuito primeiramente, a tentativa de uniformizar a recuperação, tendo em vista o difícil controle metabólico individual (fluxo sanguíneo, taxa de recaptção de lactato e íons H^+), caso cada voluntário realizasse o descanso ativamente (BANGSBO et al., 1993). Além disso, era necessário também induzir uma condição de acidose nos voluntários para que fosse possível testar a eficácia dos suplementos e o descanso passivo poderia, então, contribuir para acentuar esta acidose esperada após o exercício (BANGSBO et al., 1995; POORTMANS; BOSSCHE; LECERCQ, 1978).

Este modelo de exercício intermitente, foi adaptado do utilizado por Costill et al. (1984), e mais recentemente por Morris et al. (2011), no qual induziram uma acidose prévia para verificar, respectivamente, o efeito da suplementação de bicarbonato e lactato como possíveis tamponantes durante o exercício intermitente. No entanto, ambos os estudos utilizaram a carga de 100% da potência aeróbia máxima. Tendo em vista que os efeitos da beta-alanina e do bicarbonato de sódio no desempenho são melhor observados em atividades intermitentes de alta intensidade e de curta duração (ARTIOLI et al., 2010), nas quais há o acúmulo de metabólitos e queda do pH sanguíneo e muscular (HOLLIDGE-HORVAT et al., 2000), há a necessidade de se utilizar um modelo de exercício que consiga reproduzir estas condições.

Estudos pilotos preliminares (dados não publicados) realizados pelo nosso grupo, com o intuito de propor modelos semelhantes de teste de indução de acidose, indicaram a necessidade de utilizar uma carga supramáxima (110%) para os voluntários do presente estudo. Tendo em vista os critérios de inclusão/exclusão adotados, era esperado que a amostra fosse composta em sua maioria por indivíduos treinando regularmente em modalidades como o ciclismo ou o triátlon e, portanto, habituados a esforços intensos, de modo que a acidose seria melhor observada através de uma exigência física maior e que proporcionasse, portanto, uma queda mais proeminente do pH sanguíneo.

A utilização de um modelo de exercício intermitente com trabalho constante permite uma melhor comparação dos possíveis efeitos da suplementação sobre os sistemas energéticos. Como as situações são idênticas entre as séries sem oscilação da intensidade do esforço, qualquer variação no sistema energético, pode então, ser atribuída de certa forma à intervenção do suplemento. Qualquer alteração da intensidade e trabalho produzido durante o exercício poderia, por si só, alterar a contribuição percentual dos sistemas energéticos, o que dificultaria a interpretação dos dados, uma vez que não seria possível distinguir os efeitos indiretos da suplementação sobre a contribuição dos sistemas energéticos (via alteração da intensidade e do trabalho produzido) dos efeitos diretos sobre o metabolismo energético (que é nossa principal pergunta).

O consumo de oxigênio foi mensurado durante e até 5 minutos após o exercício intermitente. O VO_2 de repouso também foi verificado antes do teste intermitente durante 5 minutos com o voluntário sentado na bicicleta.

4.6 Teste de desempenho (*Time Trial*)

Após 10 minutos do fim do teste intermitente, os voluntários foram submetidos a um teste de desempenho na mesma bicicleta (*Time Trial*) no qual completaram no menor tempo possível (*all out*) o trabalho total de 30 kJ. Jeukendrup et al. (1996) verificaram um baixo coeficiente de variação (~3,4%) em um teste de desempenho em cicloergômetro, cujo protocolo também consistia em completar uma quantidade determinada de trabalho no menor tempo possível. Hickey et al. (1992) observaram que os voluntários demoraram cerca de 50 segundos para completar um trabalho total de 14 kJ em bicicleta, sendo que o teste apresentou boa reprodutibilidade e um coeficiente de variação de aproximadamente 2,4%. De acordo com o resultado de um estudo piloto preliminar, os voluntários do presente estudo finalizavam o trabalho total de 30 kJ com uma média de 75 s. Este tempo é relativamente próximo do àquele utilizado por atletas de ciclismo em provas de 1 km contra o relógio.

A carga do teste foi específica para cada voluntário, regulada automaticamente de acordo com a cadência produzida durante o teste, e, baseada na seguinte fórmula: carga = $\alpha \cdot \text{rpm}^2$, sendo o valor de “ α ” constante para 0.042. Este valor de “ α ” foi determinado pelo fabricante e desenvolvedores do software (Lode Excalibur) como sendo equivalente a pedalar em uma superfície plana sem resistência do vento. Assim, quanto maior a cadência gerada, maior será a carga e o

deslocamento no intervalo de tempo. A redução da cadência durante o teste, automaticamente reduz a carga e, por sua vez, o deslocamento do voluntário também será menor.

Embora se saiba que as condições laboratoriais são divergentes das situações práticas, como por exemplo, a ausência da resistência do vento, do atrito do solo ou de competidores adversários, o trabalho total de 30 kJ tenta se aproximar dos tempos habitualmente realizados pelos atletas de ciclismo para percorrer provas explosivas de curta duração (1 km contra o relógio). Dessa forma, a redução da validade externa é também compensada pelo maior controle interno e rigor metodológico.

O VO_2 não foi mensurado durante o teste de desempenho, uma vez que a contribuição dos sistemas energéticos foi verificada no exercício intermitente. Além disso, é comum em alguns momentos de testes de alta intensidade e curta duração, os voluntários realizarem grande parte do esforço em apneia, o que dificulta a análise e invalidando grande parte dos dados do consumo de oxigênio. Neste teste, foi mensurado além do tempo para completar o trabalho total, também o tempo para completar 50% do trabalho total e outras variáveis de desempenho, como a potência pico absoluta, potência média e índice de fadiga. O índice de fadiga foi calculado pela variação percentual entre a maior e a menor potência mensurada durante o teste. Os valores das variáveis de desempenho foram obtidos pelo programa Lode Excalibur.

4.7 Familiarização e reprodutibilidade dos testes

Para melhor habituar os voluntários com o modelo experimental, realizamos duas familiarizações antes do teste pré-suplementação. O intervalo entre as familiarizações foi de pelo menos 48 h. A realização de duas familiarizações permite identificar a reprodutibilidade das variáveis sanguíneas e da contribuição dos sistemas no teste intermitente, bem como o grau de variabilidade das medidas no teste de desempenho e, alertando assim, para possíveis efeitos de aprendizagem ou imprecisão do teste. Isso possibilita uma comparação muito mais acurada dos achados, sobretudo, do tempo no teste de desempenho.

4.8 Coletas, processamento e análises das amostras de sangue

As coletas de sangue ocorreram nos testes correspondentes às duas familiarizações, no teste pré e no teste pós-suplementação. Foram realizadas coletas por punção capilar da ponta dos dedos para a determinação do lactato e punção venosa para análise da gasometria sanguínea (pH, bicarbonato, excesso de base). Todas as amostras foram coletadas por pessoas treinadas e com experiência nesta função.

Cerca de 20 µL de sangue foi coletado e armazenado em 20 µL de solução NaF 2% para determinação do lactato plasmático em 10 momentos distintos, sendo: repouso, imediatamente após às séries 1, 2, 3 e 4 do exercício intermitente, seguidos dos minutos 3, 5, 7 de repouso e imediatamente antes e após o teste de desempenho. Uma amostra de 1 mL de sangue venoso foi colhida e diretamente injetada no analisador de gases sanguíneos (modelo ABL-5, Radiometer) por meio de uma agulha e seringa especialmente desenvolvidos para essa finalidade (pico 70, Radiometer) em 4 momentos, sendo: repouso, imediatamente após o exercício intermitente e antes e após o teste de desempenho.

Uma coleta adicional de sangue foi realizada tanto para o lactato como para a gasometria somente no dia do teste pós-suplementação para verificar o efeito da suplementação de bicarbonato de sódio ou placebo 60 minutos após a ingestão do suplemento. A concentração de bicarbonato foi determinada segundo a equação de Andersen-Hasselbach. A alíquota reservada para mensuração do lactato plasmático foi submetida à centrifugação a 300 g por 10 minutos a 4° C (universal 32R - Hettich). O plasma sobrenadante foi separado dos eritrócitos e o lactato plasmático determinado em duplicata pelo método enzimático colorimétrico utilizando-se o Kit Lactate II (Intertek, Katal). A leitura dos micro-ensaios foi feita pelo espectrofotômetro de placas (Victor 3/1420 Multi-Label Counter - Perkin Elmer).

Embora o único efeito adverso conhecido da suplementação de beta-alanina seja a parestesia, entendemos necessário confirmar, para maior controle interno dos resultados, a segurança da suplementação de beta-alanina nos parâmetros de controle renal, hepático e muscular. Assim, foi realizado antes e após o período de suplementação de beta-alanina, uma coleta de 9 ml de sangue da veia antecubital e enviadas para as seguintes análises: hemograma completo, plaquetas, proteína totais e frações, desidrogenase láctica, creatinina, creatino fosfoquinase, aspartato

amino transferase, fosfatase alcalina, alanina aminotransferase e ácido úrico. As amostras eram levadas imediatamente após as sessões experimentais para análise na Divisão de Laboratório Central do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

4.9 Determinação da contribuição dos sistemas energéticos

Os cálculos dos três sistemas foram realizados para cada série isoladamente. Para a estimativa do custo energético do metabolismo oxidativo, o consumo de oxigênio durante cada série do exercício intermitente foi subtraído do consumo de oxigênio em repouso. Os valores de repouso foram mensurados com o voluntário sentado na bicicleta, estático, respirando normalmente, sem falar ou realizar movimentos bruscos por 5 minutos. O consumo de repouso foi determinado multiplicando a média dos últimos 30 segundos dos valores mensurados durante o repouso (5 minutos) pelo tempo total da série (60 segundos). Em seguida, os dados do consumo de oxigênio respiração a respiração durante o exercício foram interpolados e, então, calculada a área sob a curva através de um método trapezoidal no programa *Origin* versão Pro.8.1 (OriginLab Corporation Massachusetts, USA). Finalmente, o consumo de oxigênio em repouso foi subtraído do consumo de oxigênio durante a série.

O custo energético do metabolismo ATP-CP pode ser considerado como o componente rápido do excesso de consumo de oxigênio pós-exercício. Entretanto, sendo em vista o tempo relativamente curto para a aplicação do ajuste mono ou bi exponencial na curva de recuperação entre as séries do exercício intermitente, a energia estimada para o sistema ATP-CP foi realizada com base no consumo de oxigênio do primeiro minuto da recuperação, como realizado por outros autores (LOPES-SILVA et al., 2015).

A fim de prever o domínio de intensidade do exercício, os valores de consumo de oxigênio respiração a respiração da curva do consumo de oxigênio pós-exercício foram interpolados e ajustados para uma curva bi ou monoexponencial. Isto também foi realizado com o auxílio do programa *Origin* versão Pro.8.1 (OriginLab Corporation Massachusetts, USA). Para estabelecer o melhor tipo de modelagem, os resíduos dos dois ajustes matemáticos foram comparados pelo teste *F*.

Para a estimativa do custo energético do sistema glicolítico, considerou-se que 1 mM de lactato acima dos valores de repouso, correspondia a 3 mL de consumo de oxigênio por quilograma de massa corporal (DI PRAMPERO; FERRETTI, 1999). O delta da concentração de lactato (diferença entre o lactato ao final de cada série e o lactato coletado no momento imediatamente anterior) foi multiplicado por 3 e pela massa corporal do participante.

O valor de oxigênio dos três sistemas obtido em mililitros (mL) foi convertido para litros (L) e então para energia (kJ), considerando que cada 1L de O₂ é equivalente a 20,92 kJ. Finalmente, o resultado observado por cada sistema energético foi somado para obtenção do gasto energético total durante a atividade e a contribuição relativa de cada sistema pôde ser calculada.

4.10 Avaliação do consumo alimentar

O consumo alimentar foi avaliado por uma nutricionista em dois momentos, sendo, o primeiro antes dos participantes iniciarem o estudo e o segundo após o término da participação. A primeira avaliação nutricional era realizada na primeira visita ao laboratório. Nesta avaliação era verificado o padrão alimentar do voluntário tendo como base um recordatório alimentar de 24 horas. Este recordatório consiste em listar todo o alimento (incluindo líquidos e água) consumido durante as 24 horas anteriores à visita. Em seguida, o voluntário era orientado a apenas manter um padrão alimentar semelhante nos dias anteriores às próximas visitas no período de participação no estudo. Nenhuma intervenção nutricional foi realizada após esta avaliação inicial.

Ao término do estudo, o consumo alimentar foi realizado por meio de diários alimentares (ANEXO 4) em três dias não consecutivos (baseado em dois dias durante a semana e um dia durante o fim de semana durante o período de suplementação). Esta metodologia foi anteriormente utilizada em outros estudos (ARTIOLI et al., 2007; DE SALES PAINELLI et al., 2013). O consumo energético e de macronutrientes foi analisado pelo programa de avaliação nutricional Dietpro (São Paulo, Brasil).

4.11 Análise estatística

Além de análises descritivas, foram conduzidas análises de variância de modelos mistos para medidas repetidas (ANOVA *mixed-models*) para as variáveis

sanguíneas (pH, bicarbonato, excesso de base e lactato), de desempenho (tempo do *Time Trial*, tempo para completar 50% do *Time Trial*, potência pico absoluta, potência média, índice de fadiga) e de contribuição dos sistemas (oxidativo, ATP-CP, glicolítico e gasto energético total).

“Série” (1, 2, 3 e 4), “Momento” (repouso, pós-intermitente, 5-min de recuperação, pré e pós-*Time Trial*) e “Condição” (Familiarização 1, Familiarização 2 e teste pré-suplementação) foram considerados fatores ‘fixos’ (níveis) para as análises de reprodutibilidade, enquanto “Série” (1, 2, 3 e 4), “Momento” (repouso, pós-ingestão, pós-intermitente, pré e pós-*Time Trial*) “Grupo” (BA, BIC, BA+ BIC, e PLA), e “Período” (pré e pós-suplementação) foram considerados fatores “fixos” (níveis) para a verificação da eficácia da suplementação.

Separadamente, foi realizada a análise da variância com um fator (no caso, 'condição') para analisar a variação absoluta das variáveis sanguíneas (pico de lactato) e de desempenho (variação absoluta e percentual do *Time Trial* e índice de fadiga) nas familiarizações.

Os dados de reprodutibilidade também foram usados para análise do índice de correlação intraclassa (ICC) e coeficiente de variação (CV). Adicionalmente, foi conduzida a inferência baseada em magnitude, seguindo as recomendações de Batterham e Hopkins (2006), para detectar efeitos pequenos, mas de relevância prática sobre o tempo no *Time Trial*. Foi também empregado o Teste Exato de Fischer com o objetivo de avaliar a eficácia do desenho duplo-cego do estudo e a diferença entre os modelos mono ou biexponenciais da curva de recuperação do consumo de oxigênio.

Foram testadas 4 diferentes matrizes de co-variância (*Compound Symmetry*, *Autoregressive*, *Toeplitz* e *Unstructured*) para verificarmos qual o melhor modelo que se ajustaria aos dados, de acordo com o critério de Schwarz Bayesian (menor valor BIC – “*Bayesian Information Criterion*”). No caso de um valor F significativo, comparações múltiplas com ajuste de *Tukey-Kraemer* foram empregadas para localizar diferenças específicas e o Tamanho do Efeito foi calculado utilizando o Coeficiente *d* de Cohen para as variáveis de tempo do *Time Trial* e contribuição dos sistemas considerando apenas os valores absolutos entre os períodos pré e pós-suplementação. As análises foram realizadas com o auxílio do software SAS v.9.3 e o nível de significância adotado foi de 5%.

5 Resultados

A seguir, serão apresentados os resultados de reprodutibilidade das medidas, ou seja, quando os voluntários não receberam qualquer intervenção da suplementação, bem como da eficácia dos suplementos após o período de suplementação. Nesse sentido, o teste 'pré-suplementação' foi considerado para efeito de cálculo de reprodutibilidade das variáveis. Para os dados referentes à eficácia da intervenção, a comparação foi realizada considerando somente as sessões pré *versus* pós-suplementação.

Os resultados da reprodutibilidade das medidas sanguíneas e de desempenho têm como base um total de 81 voluntários que finalizaram as etapas necessárias para este cálculo sendo; familiarização 1 (Fam 1), familiarização 2 (Fam 2) e teste pré-suplementação (PRE). Os resultados sanguíneos e de desempenho resultantes da intervenção, levam em consideração um total de 77 voluntários que finalizaram todas as etapas do estudo. Os resultados da contribuição dos sistemas, que inclui as medidas de lactato entre as séries (1, 2, 3 e 4) do teste intermitente, tem como base uma amostra de 49 voluntários para os dados de reprodutibilidade e de 40 indivíduos para os resultados referentes à suplementação.

A utilização de subamostras para o análise de algumas variáveis se dá em razão das desistências de participação de alguns voluntários. As razões são diversas e descritas anteriormente no fluxograma (Figura 2). Os dados da contribuição dos sistemas energéticos, por outro lado, são formados somente por aqueles cuja concentração de lactato foi mensurada entre as séries do exercício intermitente. O número de sujeitos em cada análise será apresentado com detalhes nos resultados mais adiante.

5.1 Reprodutibilidade dos dados

5.1.1 Variáveis sanguíneas

A Figura 3 apresenta os valores de média e de desvio padrão do pH (painel A) e do bicarbonato (painel B) sanguíneos antes e após os exercícios intermitentes durante as sessões de familiarização e o teste pré-suplementação. Nesta análise, “Condição” foi considerada um fator fixo para os níveis (Fam 1, Fam 2 e PRE).

Os valores de pH e bicarbonato em todas as familiarizações estavam significativamente mais baixos ($P < 0,001$) após as 4 séries do teste intermitente em relação ao repouso. Tais valores permaneceram reduzidos após 10 minutos de repouso passivo até o início do teste de desempenho ($P < 0,001$). Não houve diferenças estatisticamente significativas nos valores de pH e bicarbonato entre as condições, tanto no repouso quanto após o exercício intermitente ou pré-*Time Trial*. O valor de pH no momento que antecedeu ao *Time Trial* aumentou significativamente comparado ao momento pós-intermitente ($P < 0,05$). O bicarbonato também apresentou diferença estatística nessa comparação, porém, os valores tiveram redução ($P < 0,05$).

Em resposta ao esforço induzido durante os testes, o lactato sanguíneo aumentou significativamente em relação ao repouso (Figura 4, painel A). Tais valores também se mantiveram elevados após o repouso passivo que antecedeu o início do teste de desempenho ($P < 0,001$), porém, estatisticamente menor no momento pré-*Time Trial* comparado ao término do teste intermitente e nos 5 minutos seguintes de repouso ($P < 0,05$). Esta resposta do lactato foi similar em todas as condições, não havendo, portanto, diferenças estatisticamente significativa entre as familiarizações e o teste pré-suplementação em nenhum dos “Momentos”.

De modo semelhante, a redução significativa ($P < 0,001$) dos valores de excesso de base (Figura 4, painel B) reafirma a magnitude da acidose apresentada pelos voluntários após o teste intermitente, contudo, não houve diferença estatística entre os momentos pós-intermitente e pré-*Time Trial*. Os valores de excesso de base diferiram significativamente em todos os demais pontos comparados ao repouso e a reprodutibilidade desta medida segue as demais variáveis sanguíneas, em que não apresenta diferença entre as condições.

Como demonstrado anteriormente, os voluntários iniciaram o teste de desempenho (*Time Trial*) ainda com valores sanguíneos que indicavam estado de

acidose. Após o *Time Trial*, entretanto, os valores de pH (Figura 5, painel A) reduziram ($P < 0,05$) e os valores de lactato (Figura 6, painel A) aumentaram ainda mais ($P < 0,05$). Os dados do bicarbonato (Figura 5, painel B) e do excesso de base (Figura 6, painel B), no entanto, não foram diferentes tanto entre os momentos pré vs pós-*Time Trial* quanto entre as condições.

A análise da variância com um fator revelou que não houve diferenças significantes ($F=0,31$; $P=0,7341$) na variação do pico de lactato entre as condições (diferença do maior valor da concentração de lactato mensurada até 7 minutos após a última série do exercício intermitente e o valor de lactato de repouso). Os valores de média $\pm$ desvio padrão do pico de lactato para as familiarizações 1, 2 e 3 foram, respectivamente, $11,7 \pm 3,2 \text{ mmol.L}^{-1}$, $11,4 \pm 3,2 \text{ mmol.L}^{-1}$ e $11,3 \pm 3,2 \text{ mmol.L}^{-1}$.

Figura 3. Comparação dos valores de pH (painel A) e bicarbonato sanguíneos (painel B) antes e após o exercício intermitente entre a familiarização 1 (Fam 1), familiarização 2 (Fam 2) e o teste pré-suplementação (PRE) (n = 81).

* $p < 0,001$ em relação ao Repouso.

$p < 0,05$ em relação ao Pós-intermitente.

Legenda: Pós Int = Pós-intermitente; Pré-TT = Pré-*Time Trial*.

Figura 4 - Comparação dos valores de lactato (painel A) e excesso de base sanguíneos (painel B) antes e após o exercício intermitente entre a familiarização 1 (Fam 1), familiarização 2 (Fam 2) e teste pré-suplementação (PRE) (n = 81).

* $p < 0,001$ em relação ao Repouso.

$p < 0,05$ em relação ao Pós-intermitente e 5 min.

Legenda: Rep = Repouso; Pós Int = Pós-intermitente; 5 min = 5 minutos de repouso. Pré-TT = Pré-Time Trial.

Figura 5. Comparação dos valores de pH (painel A) e bicarbonato sanguíneos (painel B) antes e após o *Time Trial* entre a familiarização 1 (Fam 1), familiarização 2 (Fam 2) e teste pré-suplementação (PRE) (n = 81).

* $p < 0,001$ em relação ao Repouso

$p < 0,05$ em relação ao Pré-*Time Trial*.

Legenda: Pré-TT = Pré-*Time Trial*; Pós TT = Pós-*Time Trial*.

Figura 6. Comparação dos valores de lactato (painel A) e excesso de base sanguíneos (painel B) antes e após o *Time Trial* entre a familiarização 1 (Fam 1), familiarização 2 (Fam 2) e o teste pré-suplementação (PRE) (n = 81).

* p<0,001 em relação ao Repouso

p<0,05 em relação ao Pré-TT

Legenda: Pré-TT = Pré-*Time Trial*; Pós TT = Pós-*Time Trial*.

5.1.2 Contribuição dos sistemas

A Figura 7 demonstra a área sob a curva típica do consumo de oxigênio durante o teste intermitente. Para a estimativa da contribuição aeróbia, se utilizou a diferença entre o cálculo da integral desta área e o consumo de oxigênio de repouso. A Figura 8 apresenta o ajuste monoexponencial da curva do consumo de oxigênio da recuperação para o cálculo da contribuição alática após o teste intermitente. Foi realizado o teste estatístico F para verificar a diferença entre os resíduos para os ajustes monoexponencial (Figura 9 painel A) e biexponenciais (Figura 9, painel B). Não houve diferença entre os resíduos em nenhuma das análises e sendo possível, portanto, a utilização do ajuste monoexponencial.

Entretanto, tendo em vista que o intervalo entre as séries do exercício intermitente é insuficiente (1 minuto) para a configuração da fase lenta do consumo de oxigênio e subsequente aplicação do ajuste monoexponencial, o gasto energético do sistema ATP-CP foi estimado para todas as séries, incluindo a série 4, com base na curva de recuperação do consumo de oxigênio do primeiro minuto de repouso.

Para a estimativa do gasto energético do sistema glicolítico, considerou-se como pico de lactato a diferença entre a concentração de lactato mensurado ao final de cada série em relação àquele da série anterior. No caso da primeira série, o pico de lactato foi determinado pela diferença da concentração de lactato analisado ao final da série e o repouso.

A Tabela 4 apresenta o custo energético estimado dos sistemas oxidativo, ATP-CP e glicolítico entre as sessões de familiarização e o teste pré-suplementação. Não houve diferença estatística entre as condições para nenhum dos sistemas. A análise do Modelo Misto revelou efeito principal de “Série” em todas as condições, indicando que o custo energético estimado dos sistemas oxidativo ($F=184,85$; $P<0,0001$) e ATP-CP ($F=25,85$; $P<0,0001$) foi estatisticamente maior nas três últimas séries em relação à primeira, bem como na série 4 em relação à série 2. O custo energético estimado do sistema glicolítico, por outro lado, foi estatisticamente menor ($F=634,17$; $P<0,0001$) na última série em comparação às demais. Houve diferença estatística ($P<0,001$) do gasto energético total apenas da primeira série, que foi menor em relação às demais.

A Figura 10 apresenta a estimativa da contribuição relativa (percentual) dos sistemas energéticos durante as familiarizações e o teste pré-suplementação. Também não houve diferença estatística entre as condições para nenhum dos

sistemas energéticos. Em todas as sessões de condições, a contribuição relativa do sistema oxidativo também é maior nas três últimas séries em comparação à primeira e na série 4 em relação à série 2. A contribuição relativa do sistema ATP-CP, entretanto, reduz significativamente ($P < 0,001$) nas séries 2 e 3 mas aumenta significativamente na série 4 para valores próximos ao observado na série 1. Este aumento, entretanto, não é significativo no teste pré-suplementação. A contribuição relativa do sistema glicolítico é significativamente menor na última série em relação à primeira em todas as condições ($P < 0,001$). No teste pré-suplementação a contribuição glicolítica relativa também foi estatisticamente menor na série 3 em comparação à série 1 ($P < 0,05$).

A Figura 11 (painel A) demonstra os valores da concentração de lactato após cada série do teste intermitente. O lactato aumentou estatisticamente em relação ao repouso ($P < 0,001$) ao final da série 1 e persistiu aumentando em todas as séries seguintes, sendo cada valor estatisticamente diferente dos demais em todas as condições ($F = 688,58$; $P < 0,0001$). Não foi identificado efeito principal de “Condição” e não havendo, portanto, diferença estatística entre as familiarizações e o teste pré-suplementação ($F = 1,26$; $P = 0,2875$).

A análise do Modelo Misto revelou efeito principal de “Série” para o delta de lactato entre as séries ($F = 13,85$; $P < 0,0001$), mostrando que houve uma redução significativa do delta de lactato na série 4 em relação às demais séries do exercício intermitente. Por outro lado, não foi verificado efeito principal de “Condição” ($F = 0,33$; $P = 0,7214$), mostrando que o delta de lactato não foi diferente entre as familiarizações e o teste pré-suplementação. A Figura 11 (painel B) apresenta a delta da concentração de lactato entre as séries.

Figura 7 - Exemplo dos dados interpolados entre os pontos iniciais e finais do consumo de oxigênio durante uma sessão do teste intermitente encontrado em um dos voluntários.

Figura 8 - Exemplo do ajuste monoexponencial aplicado à curva de recuperação do consumo de oxigênio após a quarta série do teste intermitente encontrado em um dos voluntários.

Figura 9 - Exemplo dos resíduos resultantes dos ajustes monoexponencial (painel A) e biexponencial (Painel B) aplicado à curva de recuperação do consumo de oxigênio após a quarta série do teste intermitente encontrado em um dos voluntários.

Tabela 4 - Média (desvio padrão) do custo energético absoluto estimado para os sistemas oxidativo, ATP-CP e glicolítico durante a familiarização 1 (Fam 1), familiarização 2 (Fam 2) e o teste pré-suplementação (PRE) (n=49).

Séries	Fam 1				Fam 2				PRE			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
Oxidativo (kJ)	40,5 (6,8)	49,3* (7,6)	51,8*# (7,4)	51,1*# (8,6)	42,1 (6,9)	49,9* (7,2)	52,4*# (8,3)	53,3*# (8,9)	40,4 (6,2)	49,9* (7,1)	51,5*#† (7,3)	53,2*# (8,3)
ATP-CP (kJ)	32,8 (6,1)	34,6* (6,4)	35,3* (7,0)	35,5*# (6,1)	31,8 (5,8)	34,1* (5,7)	34,5*† (6,4)	36,9*# (6,0)	33,3 (5,2)	34,6* (6,1)	35,4* (5,9)	36,5*# (6,9)
Glicolítico (kJ)	13,1† (6,1)	13,2† (6,4)	13,1† (7,2)	8,9 (7,5)	12,4† (7,3)	12,4† (5,9)	12,4† (6,6)	9,0 (6,5)	12,2† (6,8)	13,7† (5,6)	11,3† (6,7)	8,3 (5,3)
GET (kJ)	86,4 (13,5)	97,3* (15,2)	100,2* (13,3)	96,0* (13,2)	86,3 (12,6)	96,6* (13,3)	100,4* (13,4)	99,4* (14,6)	85,9 (12,8)	98,2* (12,8)	98,3* (12,5)	98,0* (14,6)

*P<0,001 em relação à Série 1

P<0,05 em relação à Série 2

† P<0,05 em relação à Série 4

Legenda: GET = Gasto Energético Total

Figura 10 - Estimativa da contribuição relativa (%) dos sistemas energéticos entre a série 1 (S1), série 2 (S2), série 3 (S3) e série 4 (S4) durante a familiarização 1 (FAM 1), familiarização 2 (FAM 2) e o teste pré-suplementação (PRE) (n = 49).

* p<0,001 em relação à S1; # p<0,05 em relação à S4.

Figura 11 - Comparação entre a série 1 (S1), Série 2 (S2), Série 3 (S3) e Série 4 (S4) dos valores da concentração (painel A) e delta (painel B) de lactato sanguíneos entre a familiarização 1 (Fam 1), familiarização 2 (Fam 2) e o teste pré-suplementação (n = 49).

* $p < 0,001$ comparado ao Repouso

$p < 0,001$ comparado às demais séries

§ $p < 0,001$ em relação às demais séries

Legenda: Rep = Repouso

5.1.3 Variáveis de desempenho - *Time Trial*

A Tabela 5 apresenta os valores de desempenho (potência, percentual de fadiga e tempo no *Time Trial*) entre os períodos de familiarização e o teste pré-suplementação. A análise da variância com um fator revelou que não houve diferenças significantes ($F=1,35$; $P=0,2628$) na variação do *Time Trial* entre as condições (Figura 12). Também não houve diferença estatística entre as familiarizações e o teste pré-suplementação para a potência pico absoluta ($F=0,80$; $P=0,4495$), potência média ($F=0,21$; $P=0,8106$), índice de fadiga ($F=0,10$; $P=0,9065$), ou tempo para completar 50% do *Time Trial* ($F=0,39$; $P=0,6803$).

O menor coeficiente de variação encontrado para o tempo do *Time Trial* foi de $3,7 \pm 2,5\%$ na comparação entre a Familiarização 2 e o teste pré-suplementação com o ICC= 0,995 para um intervalo de confiança de 95%. O valor deste coeficiente será utilizado como referência na comparação dos resultados para verificar o efeito da suplementação. O percentual de variação individual no tempo do *Time Trial* entre as familiarizações 2 e o teste pré-suplementação também indica uma variação aleatória e não apresentam resultados de tendência (Figura 13).

Tabela 5 - Valores de média $\pm$ desvio padrão (DP), coeficiente de variação e índice de correlação intraclass (ICC) dos parâmetros de desempenho entre os períodos de familiarização e o teste pré-suplementação (n = 81).

Variáveis	Fam 1	Fam 2	PRE	% Coeficiente de Variação (ICC 95%)		
	Média $\pm$ DP	Média $\pm$ DP	Média $\pm$ DP	Fam 1 vs Fam 2	Fam 1 vs Fam 3	Fam 2 vs Fam 3
<i>Time Trial</i> (s)	74,7 $\pm$ 15,0	71,6 $\pm$ 14,4	71,3 $\pm$ 14,3	5,2 $\pm$ 4,0 (0,965)	5,9 $\pm$ 4,2 (0,939)	3,7 $\pm$ 2,5 (0,995)
50% <i>Time Trial</i> (s)	28,3 $\pm$ 5,5	27,7 $\pm$ 5,8	27,6 $\pm$ 5,7	6,4 $\pm$ 5,0 (0,878)	6,5 $\pm$ 5,5 (0,889)	4,3 $\pm$ 4,0 (0,950)
Potência Pico Absoluta (W)	749,0 $\pm$ 179,0	780,6 $\pm$ 191,4	781,8 $\pm$ 189,5	8,2 $\pm$ 7,2 (0,910)	8,1 $\pm$ 8,0 (0,891)	5,7 $\pm$ 5,6 (0,950)
Potencia Média (W)	422,9 $\pm$ 139,3	434,2 $\pm$ 108,3	437,2 $\pm$ 95,7	6,2 $\pm$ 4,4 (0,933)	6,9 $\pm$ 5,0 (0,903)	4,3 $\pm$ 3,7 (0,969)
Índice de Fadiga (%)	62,8 $\pm$ 12,6	62,8 $\pm$ 11,7	62,1 $\pm$ 12,4	9,9 $\pm$ 8,2 (0,759)	9,5 $\pm$ 8,9 (0,795)	6,3 $\pm$ 5,3 (0,914)

Legenda: familiarização 1 (Fam 1), familiarização 2 (Fam 2) e teste pré-suplementação (PRE).

Figura 12. Comparação entre os tempos no *Time Trial* durante a familiarização 1 (Fam 1), familiarização 2 (Fam 2) e o teste pré-suplementação (PRE) (n = 81).

Figura 13. Variação percentual individual do tempo no *Time Trial* entre a familiarização 2 e o teste pré-suplementação (n = 81).

5.2 Eficácia da Suplementação

5.2.1 Variáveis sanguíneas

Os valores do pH em cada um dos “Momentos” (Repouso, pós-ingestão, pós-intermitente, pré e pós-*Time Trial*), “Grupos” (beta-alanina, BA; bicarbonato, BIC; beta-alanina e bicarbonato de sódio, BA + BIC; e placebo, PLA) e “Períodos” (pré e pós) de suplementação estão apresentados na Tabela 6. Não foram identificadas diferenças significantes entre os grupos nos períodos pré ou pós-suplementação no momento de repouso.

A análise do Modelo Misto detectou efeito principal de 'Momento' ($F=138,07$; $P<0,0001$) para o pH sanguíneo, indicando uma significante redução desta variável nos momentos pós-intermitente, pré e pós-*Time Trial* em ambos os períodos de suplementação e em todos os grupos. O pH também esteve menor após o *Time Trial* em comparação ao momento pré-*Time Trial* antes e após o período de suplementação em todos os grupos. O pH aumentou significativamente no momento pós-ingestão para ambos os grupos que ingeriram bicarbonato de sódio (BIC e BA + BIC). A análise do Modelo Misto detectou efeito principal de “Período” ($F=404,02$; $P<0,0001$) para o pH sanguíneo, apontando uma queda menos acentuada do pH sanguíneo em todos os momentos após o início do exercício intermitente nos grupos que foram suplementados com bicarbonato de sódio e somente no momento pós-intermitente no grupo que foi suplementado com beta-alanina (BA).

A Tabela 7 apresenta os valores de bicarbonato. Não foram identificadas diferenças significantes entre os grupos para ambos os períodos de suplementação no momento de repouso. A análise do Modelo Misto detectou efeito principal de “Momento” ($F=213,52$; $P<0,0001$) havendo uma redução significativa nos valores de bicarbonato em relação ao repouso, que se manteve até o *Time Trial*. Não houve diferença estatística entre os momentos pré e pós-*Time Trial* para nenhum grupo ou período. Os valores de bicarbonato aumentaram significativamente no momento pós-ingestão em ambos os grupos que ingeriam o bicarbonato de sódio. A análise do Modelo Misto detectou também efeito principal de “Período” ($F=654,04$; $P<0,0001$) e o bicarbonato de sódio foi maior no período pós-suplementação nos grupos BIC e BA + BIC em todos os momentos que se seguiram após a ingestão do suplemento (Fase 2).

Os valores do excesso de base (Tabela 8) responderam similarmente às demais variáveis metabólicas e acusaram acidose estatisticamente significativa após o teste intermitente em comparação ao repouso ($F=222,03$; $P<0,0001$). Concomitantemente ao aumento do bicarbonato e do pH sanguíneos após a ingestão do suplemento na Fase 2, houve aumento significativo do excesso de base nos grupos BIC ($1,0 \pm 2,2 \text{ mEq.L}^{-1}$ vs $6,4 \pm 2,7 \text{ mEq.L}^{-1}$) e BA + BIC ($1,7 \pm 2,3 \text{ mEq.L}^{-1}$ vs $7,2 \pm 3,3 \text{ mEq.L}^{-1}$). Os valores de excesso de base foram significativamente maiores nos momentos pós-*Time Trial* e pós-intermitente no teste pós-suplementação ($F=106,23$; $P<0,0001$) nos grupos que receberam os suplementos de bicarbonato de sódio (BIC e BA + BIC).

Não houve diferença estatística nos valores de lactato no momento de repouso entre grupos e períodos de suplementação, bem como no momento pós-ingestão (Fase 2). O lactato aumentou significativamente após o exercício intermitente se mantendo elevado até o *Time Trial* (Tabela 9). A análise do Modelo Misto detectou efeito principal de 'Momento' ($F=307,07$; $P<0,0001$) com aumento do lactato após o *Time Trial* em todos os grupos e em ambos os períodos de suplementação. A análise do Modelo Misto também identificou efeito principal de 'Período' ($F=307,07$; $P<0,0001$) com aumento do lactato após o *Time Trial* no período pós-suplementação nos grupos que consumiram bicarbonato de sódio. Houve ainda uma tendência à significância ($P=0,06$) para um maior valor de lactato nestes mesmos grupos entre os períodos de suplementação no momento pós-intermitente.

Tabela 6 - Valores de média, desvio padrão (DP), mínimos (Min) e máximos (Máx) de pH sanguíneo entre os períodos de suplementação (n = 77).

Grupo	BA				BIC				BA + BIC				PLA			
	Média	DP	Min	Máx	Média	DP	Min	Máx	Média	DP	Min	Máx	Média	DP	Min	Máx
Pré-suplementação																
Repouso	7,358	0,040	7,301	7,455	7,349	0,041	7,286	7,431	7,354	0,041	7,278	7,418	7,372	0,038	7,297	7,426
Pós – Intermitente	7,155*	0,053	7,071	7,262	7,126*	0,083	6,937	7,252	7,142*	0,089	6,923	7,299	7,190*	0,056	7,067	7,271
Pré - <i>Time Trial</i>	7,202*#	0,043	7,132	7,291	7,166*#	0,083	7,015	7,304	7,169*#	0,105	6,935	7,347	7,229*#	0,065	7,093	7,323
Pós - <i>Time Trial</i>	7,091*#	0,068	6,976	7,202	7,052*#	0,078	6,889	7,221	7,093*#	0,097	6,898	7,241	7,117*#	0,082	7,000	7,255
Pós-Suplementação																
Repouso	7,367	0,041	7,282	7,416	7,360	0,031	7,322	7,424	7,360	0,038	7,307	7,423	7,375	0,026	7,336	7,426
Pós-Ingestão (Fase 2)	7,366	0,038	7,322	7,475	7,405*	0,039	7,318	7,481	7,414*	0,050	7,297	7,492	7,371	0,029	7,331	7,428
Pós – Intermitente	7,168*†	0,057	7,087	7,270	7,204*†	0,070	7,072	7,309	7,205*†	0,098	6,990	7,351	7,196*	0,063	7,064	7,292
Pré - <i>Time Trial</i>	7,189*#	0,067	7,061	7,304	7,253*#†	0,084	7,118	7,394	7,258*#†	0,103	7,057	7,436	7,228*#	0,073	7,091	7,327
Pós - <i>Time Trial</i>	7,117*#	0,083	6,939	7,261	7,119*#†	0,095	6,917	7,240	7,145*#†	0,133	6,863	7,348	7,130*#	0,086	6,958	7,269

*P<0,001. Significativamente diferente em relação ao repouso e pós-ingestão para o mesmo grupo dentro do mesmo período de suplementação

P<0,05. Significativamente diferente do momento imediatamente anterior para o mesmo grupo dentro do mesmo período de suplementação

† P<0,05. Significativamente diferente do mesmo momento no período pré-suplementação

Legenda: BA= Beta-alanina; BIC = Bicarbonato; BA + BIC = Beta-alanina e Bicarbonato; PLA = Placebo

Tabela 7 - Valores de média, desvio padrão (DP), mínimos (Min) e máximos (Máx) de bicarbonato sanguíneo (mmol/L) entre os períodos de suplementação.

Grupo	BA				BIC				BA + BIC				PLA			
	Média	DP	Min	Máx	Média	DP	Min	Máx	Média	DP	Min	Máx	Média	DP	Min	Máx
Pré-suplementação																
Repouso	27,7	2,1	22,4	31,0	27,4	1,7	24,1	30,5	28,1	2,1	24,0	31,3	27,1	2,0	24,2	30,5
Pós - Intermitente	18,1*	2,9	11,2	22,4	16,6*	3,1	12,2	23,9	17,0*	4,0	9,8	24,3	17,9*	3,8	11,0	25,2
Pré - <i>Time Trial</i>	15,9*#	2,8	12,5	22,9	15,5*#	3,9	7,9	22,1	16,2*#	3,1	8,8	21,4	15,7*#	3,5	9,8	24,2
Pós - <i>Time Trial</i>	15,4*	3,4	9,7	22,5	15,0*	4,1	7,1	22,4	15,3*	4,8	6,2	23,6	16,1*	3,5	9,9	23,2
Pós-Suplementação																
Repouso	27,5	2,2	24	31,6	27,5	2,4	23,0	31,9	28,3	2,2	24,9	33,2	27,6	2,6	22,5	34,1
Pós-Ingestão (Fase 2)	29,0	2,3	24,5	33,7	33,1*	2,7	29,0	39,5	33,7*	2,9	29,5	39,0	29,2	2,6	24,1	35,7
Pós - Intermitente	19,0*	4,3	13,5	29,9	20,9*†	4,0	15,7	31,8	21,5*†	4,4	14,2	30,0	19,2*	3,3	11,7	23,9
Pré - <i>Time Trial</i>	16,2*#	2,7	10,3	19,3	18,5*#†	4,1	11,6	26,6	18,5*#†	4,3	11,8	25,7	17,0*#	4,0	11,5	25,3
Pós - <i>Time Trial</i>	15,8*	3,3	10,7	22,6	17,9*†	4,2	9,5	26,1	18,1*†	5,1	10,2	27,7	15,6*	4,1	9,3	23,7

*P<0,001. Significativamente diferente em relação ao repouso e pós-ingestão para o mesmo grupo dentro do mesmo período de suplementação

P<0,05. Significativamente diferente do momento imediatamente anterior para o mesmo grupo dentro do mesmo período de suplementação

† P<0,05. Significativamente diferente do mesmo momento no período pré-suplementação

Legenda: BA= Beta-alanina; BIC = Bicarbonato; BA + BIC = Beta-alanina e Bicarbonato; PLA = Placebo (N = 77)

Tabela 8 - Valores de média, desvio padrão (DP), mínimos (Min) e máximos (Máx) de excesso de base (mEq.L⁻¹) sanguíneo entre os períodos de suplementação (n= 77).

Grupos	BA				BIC				BA + BIC				PLA			
	Média	DP	Min	Máx	Média	DP	Min	Máx	Média	DP	Min	Máx	Média	DP	Min	Máx
Pré-suplementação																
Repouso	1,1	1,9	-2,9	3,9	0,8	1,9	-2,7	4,3	1,4	2,0	-2,1	4,9	1,0	2,2	-2,8	4,2
Pós - Intermitente	-11,2*	3,3	-16,9	-6,2	-11,7*	5,5	-20,4	5,2	-12,4*	4,3	-20,5	-2,9	-11,3*	3,8	-17,4	-2,8
Pré - <i>Time Trial</i>	-11,7*	2,9	-15,6	-4,8	-12,2*	6,4	-22,4	5,7	-12,3*	4,2	-20,6	-5,5	-11,2*	4,21	-19,0	-2,4
Pós - <i>Time Trial</i>	-14,7*	3,3	-20,9	-6,5	-16,5*	3,5	-22,3	-9,7	-15,6*	4,9	-24,6	-4,9	-13,6*	4,1	-20,3	-5,1
Pós-Suplementação																
Repouso	1,3	2,2	-3,7	4,6	1,0	2,2	-2,9	5,3	1,7	2,3	-2,4	6,0	1,5	2,0	-2,2	6,4
Pós-Ingestão (Fase 2)	2,3	2,1	-1,4	5,9	6,4*	2,7	2,4	13,2	7,2*	3,3	1,6	13,0	2,7	2,4	-2,3	8,0
Pós - Intermitente	-10,5*	3,3	-16,1	-3,5	-7,8†	5,2	-12,6	2,5	-8,6†	4,0	-16,1	-1,8	-10,4*	5,8	-14,9	11,5
Pré - <i>Time Trial</i>	-11,7*	3,2	-18,2	-7,0	-8,9*	5,1	-16,6	0,1	-8,5*	5,6	-17,0	0,5	-10,3*	4,7	-17,8	-1,4
Pós - <i>Time Trial</i>	-13,8*#	4,1	-13,3	-5,1	-12,2*#†	4,4	-17,7	-4,2	-12,5*#†	6,2	-21,7	-1,9	-13,4*	4,4	-19,7	-4,0

*P<0,001. Significativamente diferente em relação ao repouso e pós-ingestão para o mesmo grupo dentro do mesmo período de suplementação

P<0,05. Significativamente diferente do momento imediatamente anterior para o mesmo grupo dentro do mesmo período de suplementação

† P<0,05. Significativamente diferente do mesmo momento no período pré-suplementação

Legenda: BA= Beta-alanina; BIC = Bicarbonato; BA + BIC = Beta-alanina e Bicarbonato; PLA = Placebo

Tabela 9 - Valores de média, desvio padrão (DP), mínimos (Min) e máximos (Máx) de lactato sanguíneo (mmol/l) entre os períodos de suplementação (n=77).

Grupos	BA				BIC				BA + BIC				PLA			
	Média	DP	Min	Máx	Média	DP	Min	Máx	Média	DP	Min	Máx	Média	DP	Min	Máx
Pré-suplementação																
Repouso	0,9	0,3	0,4	1,6	1,0	0,4	0,3	1,6	1,1	0,7	0,5	3,2	0,9	0,4	0,1	1,6
Pós-Intermitente	11,7*	2,8	5,9	16,5	10,8*	2,8	7,0	16,5	11,6*	3,6	7,3	17,2	10,8*	3,1	5,0	14,7
5 min Recuperação	11,8*	2,9	6,3	18,2	11,3*	2,6	7,6	15,5	11,9*	3,1	6,3	16,9	10,6*	3,9	4,3	15,8
Pré-Time Trial	10,3*#	2,7	6,3	15,5	10,0*#	3,1	3,9	14,1	10,1*#	2,6	6,8	15,3	9,6*#	4,1	2,0	15,3
Pós-Time Trial	13,3*#	2,9	9,1	19,8	12,8*#	2,8	8,6	17,8	13,3*#	3,5	8,5	19,8	13,0*#	3,1	6,9	16,8
Pós-Suplementação																
Repouso	0,8	0,5	0,1	1,9	1,1	0,6	0,3	3,0	1,1	0,6	0,2	2,3	0,9	0,6	0,1	2,3
Pós-Ingestão (fase 2)	0,6	0,3	0,1	1,7	0,9	0,4	0,3	1,6	0,9	0,5	0,1	2,0	0,9	0,5	0,2	1,9
Pós – Intermitente	11,3*	3,1	5,6	16,9	12,6*§	2,7	8,2	16,3	12,4*§	2,9	6,5	16,0	10,9*	2,4	6,8	15,4
5 min Recuperação	11,6*	2,8	6,4	15,9	12,0*	2,3	6,7	15,1	12,5*	2,7	7,9	17,1	11,5*	3,2	6,0	17,2
Pré-Time Trial	10,5*#	2,7	5,8	14,7	11,5*#	3,3	4,9	17,0	11,7*#	3,2	6,5	17,3	10,7*#	3,6	4,9	16,6
Pós-Time Trial	13,2*#	3,2	7,2	18,6	15,0*#†	2,3	10,8	18,7	15,5*#†	2,0	11,7	18,3	13,3*#	3,1	7,7	18,1

*P<0,001. Significativamente diferente em relação ao repouso e pós-ingestão para o mesmo grupo dentro do mesmo período de suplementação

P<0,05. Significativamente diferente do momento imediatamente anterior para o mesmo grupo dentro do mesmo período de suplementação

† P<0,05. Significativamente diferente do mesmo momento no período pré-suplementação

§ P<0,06 tendência diferente do mesmo momento no período pré-suplementação

Legenda: BA= Beta-alanina; BIC = Bicarbonato; BA + BIC = Beta-alanina e Bicarbonato; PLA = Placebo

5.2.2 Contribuição dos sistemas

A Tabela 10 apresenta os valores da estimativa absoluta e relativa da contribuição do sistema oxidativo durante as “Séries” do teste intermitente nos “Períodos” (pré e pós) de suplementação. O tamanho do efeito também é apresentado na comparação dos valores absolutos entre os períodos de suplementação.

A análise do Modelo Misto detectou efeito principal de “Série” em todos os grupos e em ambos os períodos de suplementação para a estimativa absoluta ($F=115,05$; $P<0,0001$), indicando um significativo aumento do custo energético oxidativo nas séries 2, 3 e 4 em comparação à série 1, bem como na série 4 em comparação à série 2. Para a estimativa da contribuição relativa ($F=347,54$; $P<0,0001$), as mesmas diferenças estatísticas foram observadas, com exceção da série 2 em comparação à série 1. Não foram identificadas diferenças estatísticas entre os períodos de suplementação tanto para a estimativa absoluta ($F=0,06$; $P=0,8144$) como para a relativa ($F=2,18$; $P=0,1485$).

Os resultados da estimativa da contribuição do sistema ATP-CP estão na Tabela 11. A análise do Modelo Misto detectou efeito principal de “Série” em todos os grupos e em ambos os períodos de suplementação para a estimativa absoluta ($F=10,42$; $P<0,0001$), em que houve um aumento da contribuição energética nas séries 2 e 4 em comparação à série 1. Não houve efeito principal de “Série” para a estimativa relativa ($F=0,32$; $P=0,5745$). Entretanto, a análise do Modelo Misto detectou efeito principal de “Período” ($F=3,43$; $P=0,0271$), indicando uma redução significativa da contribuição do sistema ATP-CP na série 1 no momento pós-suplementação no grupo BIC.

A Tabela 12 apresenta a estimativa do custo energético absoluto e da contribuição relativa do sistema glicolítico. A análise do Modelo Misto detectou efeito principal de “Série” para a estimativa absoluta somente no período pós-suplementação ($F=432,17$; $P<0,0001$). No grupo BA o custo energético do sistema glicolítico foi maior na série 2 em comparação à série 4. A mesma diferença estatística foi observada no grupo BIC e BA + BIC. Nestes mesmos grupos, as duas últimas séries apresentaram valores menores em comparação à primeira série.

Considerando a estimativa da contribuição relativa no período pré-suplementação, houve uma redução significativa da contribuição glicolítica nas duas

últimas séries em relação à segunda série em todos os grupos. No período pós-suplementação estas mesmas diferenças se mantiveram em todos os grupos. Ainda no período pós-suplementação, a contribuição relativa do sistema glicolítico também foi estatisticamente menor na série 4 em comparação a série 1 somente nos grupos que receberam alguma intervenção. A análise do Modelo Misto detectou efeito principal de “Período” para a estimativa tanto absoluta ($F=4,89$; $P=0,0331$) como relativa ($F=2,79$; $P=0,0241$) no grupo BIC, indicando um aumento estatisticamente significativo ($P<0,05$; $d = 1,1$ – grande) da contribuição glicolítica na série 1 do período pós-suplementação.

Os dados do gasto energético total são apresentados na Tabela 13. Houve aumento estatisticamente significativo nas séries 2, 3 e 4 em comparação à série 1 para todos os grupos e em ambos os períodos de suplementação ($F=303,32$; $P<0,0001$). Não houve diferença estatística entre os períodos de suplementação ($F=3,84$; $P=0,8958$).

As Figuras 14 e 15 apresentam, respectivamente, os resultados da concentração e do delta de lactato entre as séries do teste intermitente. Em todos os grupos e períodos de suplementação, houve aumento da concentração de lactato ao final de todas as séries, que por sua vez, foi estatisticamente diferente das demais séries ($F= 240,86$; $P<0001$). No grupo BIC a análise do modelo misto detectou efeito principal de “Período” ($F=2,33$; $P=0,0291$), indicando aumento da concentração de lactato na série 2 no período pós-suplementação.

A análise do Modelo Misto também identificou efeito principal de “Momento” ($F=7,55$; $P=0,0002$), indicando que o valor do delta de lactato foi menor na série 4 em comparação à série 2 no grupo BA em ambos os períodos de suplementação. No grupo BIC, entretanto, o valor do delta de lactato foi menor na série 4 em comparação à série 2 e 3, somente no período pós-suplementação. A análise do Modelo Misto também detectou efeito principal de ‘Período’ ($F=2,33$; $P=0,0291$) no grupo BIC em que aponta um aumento do valor do delta de lactato na série 2 no período pós-suplementação. Não houve diferença estatística para o delta de lactato nos grupos BA + BIC e PLA.

Tabela 10 - Média (desvio padrão) da estimativa do custo energético absoluto e relativo para o sistema oxidativo e o tamanho do efeito para a estimativa absoluta (kJ) entre os períodos de suplementação (n=40).

Séries	BA				BIC				BA + BIC				PLA			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
Pré-suplementação																
Absoluto (kJ)	41,3 (6,5)	50,2*# (4,5)	52,7* (5,0)	54,2* (5,0)	41,0 (4,7)	48,1*# (6,0)	51,7* (9,1)	54,3* (12,6)	41,8 (7,5)	50,4*# (7,9)	52,3* (6,4)	52,6* (5,9)	39,6 (5,8)	50,7*# (9,1)	52,1* (8,8)	52,1* (10,3)
Relativo %	47,1 (6,3)	49,1# (4,0)	52,7* (4,5)	53,2* (5,4)	48,1 (3,0)	49,3# (4,6)	51,2* (3,6)	54,2* (3,4)	48,0 (2,8)	51,0# (4,5)	53,5* (4,4)	54,2* (1,9)	45,0 (4,7)	50,8# (5,2)	52,8* (6,9)	53,4* (3,4)
Pós-suplementação																
Absoluto (kJ)	40,6 (5,1)	48,2*# (5,0)	51,3* (6,1)	53,4* (5,8)	38,7 (4,7)	47,6*# (6,5)	51,5* (5,7)	51,6* (7,6)	43,3 (7,2)	49,9*# (8,7)	54,1* (8,1)	56,3* (6,8)	43,0 (6,3)	50,4*# (8,0)	52,0* (7,2)	52,7* (8,3)
Relativo %	45,9 (4,0)	48,0# (5,6)	50,8* (4,5)	53,3* (4,1)	43,3 (7,4)	46,5# (2,4)	53,0* (3,1)	52,2* (5,2)	46,0 (4,9)	49,5# (5,6)	54,3* (6,9)	55,4* (4,7)	47,4 (5,5)	50,3# (5,0)	53,3* (6,5)	54,5* (3,2)
Cohen's <i>d</i>	0,14	0,44	0,27	0,16	0,54	0,08	0,03	0,27	0,22	0,06	0,26	0,6	0,59	0,04	0,01	0,07

* $p < 0,001$ em relação à Série 1

$p < 0,05$ em relação à Série 4

Legenda: BA= Beta-alanina; BIC = Bicarbonato; BA + BIC = Beta-alanina e Bicarbonato; PLA = Placebo. Cohen's *d*: trivial ($\geq -0,15$ and $< 0,15$); pequeno ($\geq 0,15$ and $< 0,40$); médio ($\geq 0,40$ and $< 0,75$); grande ($\geq 0,75$ and $< 1,10$); muito grande ($\geq 1,10$ and $< 1,45$); quase perfeito ($> 1,45$).

Tabela 11 - Média (desvio padrão) da estimativa do custo energético absoluto e relativo para o sistema ATP-CP e o tamanho do efeito para a estimativa absoluta (kJ) entre os períodos de suplementação (n=40).

Séries	BA				BIC				BA + BIC				PLA			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
Pré-suplementação																
Absoluto (kJ)	33,3 (3,0)	36,2 (5,7)	37,1* (4,2)	37,9* (5,7)	34,5 (3,2)	36,6 (7,2)	38,2* (7,0)	37,9* (9,1)	32,5 (4,6)	33,9 (4,8)	35,2* (4,8)	35,3* (4,9)	34,8 (7,0)	36,8 (5,7)	36,9* (6,9)	37,7* (9,1)
Relativo %	38,2 (4,3)	35,1 (3,9)	37,0 (2,1)	36,8 (3,0)	41,2 (4,1)	37,1 (2,9)	37,8 (3,3)	37,7 (3,7)	37,3 (4,3)	34,3 (2,1)	35,9 (3,0)	36,3 (2,7)	40,5 (4,7)	36,9 (3,0)	36,4 (5,1)	38,7 (3,5)
Pós-suplementação																
Absoluto (kJ)	34,6 (3,5)	36,5 (4,3)	39,0* (5,0)	37,8* (5,2)	33,7 (6,5)	36,4 (6,4)	37,9* (6,9)	38,4* (7,2)	32,5 (4,9)	32,5 (3,9)	34,6* (4,6)	35,4* (4,4)	34,7 (8,5)	35,0 (6,8)	36,4* (10,0)	37,8* (9,6)
Relativo %	39,3 (4,1)	36,2 (3,7)	38,6 (4,1)	37,7 (3,7)	36,9† (2,9)	35,7 (5,7)	38,7 (3,2)	38,6 (3,4)	35,5 (5,8)	32,2 (4,9)	35,1 (3,8)	36,3 (3,8)	38,2 (7,8)	34,9 (5,1)	36,5 (6,4)	39,3 (4,9)
Cohen's <i>d</i>	0,42	0,06	0,43	0,02	0,16	0,03	0,05	0,07	0	0,34	0,13	0,02	0,02	0,26	0,06	0,01

* $p < 0,001$ em relação à Série 1

† $p < 0,05$ em relação ao período pré-suplementação

Legenda: BA= Beta-alanina; BIC = Bicarbonato; BA + BIC = Beta-alanina e Bicarbonato; PLA = Placebo; Cohen's *d*: trivial ($\geq -0,15$ and $< 0,15$); pequeno ($\geq 0,15$ and $< 0,40$); médio ($\geq 0,40$ and $< 0,75$); grande ($\geq 0,75$ and $< 1,10$); muito grande ($\geq 1,10$ and $< 1,45$); quase perfeito $> 1,45$.

Tabela 12 - Média (desvio padrão) da estimativa do custo energético absoluto e relativo para o sistema glicolítico e o tamanho do efeito para a estimativa absoluta (kJ) entre os períodos de suplementação (n=40).

	BA				BIC				BA + BIC				PLA			
Séries	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
Pré-suplementação																
Absoluto (kJ)	12,9 (6,6)	16,0 (4,8)	10,4 (4,9)	10,4 (6,9)	9,9 (7,2)	13,6 (6,8)	10,8 (6,2)	7,5 (5,2)	12,6 (5,3)	14,5 (5,7)	11,1 (5,6)	9,3 (3,0)	13,3 (7,8)	16,0 (5,3)	11,3 (10,8)	7,6 (2,6)
Relativo %	14,5 (7,4)	15,6# (4,1)	10,2§ (4,4)	9,9 (5,9)	11,1 (6,5)	13,5# (5,8)	10,5§ (6,0)	7,9 (5,5)	14,4 (5,4)	14,6# (5,9)	11,9§ (5,6)	9,3 (2,9)	14,8 (6,3)	15,1# (5,0)	10,7§ (10,1)	7,8 (2,6)
Pós-suplementação																
Absoluto (kJ)	13,5 (7,6)	16,2# (7,1)	10,4 (5,2)	8,9 (5,9)	18,7† (9,4)	18,3# (6,5)	8,1*§ (4,2)	8,7* (5,3)	18,2 (8,8)	18,5# (5,5)	11,1*§ (9,3)	8,7* (7,2)	12,9 (8,8)	14,6 (6,9)	11,1 (10,0)	8,8 (3,7)
Relativo %	14,7 (7,0)	15,6# (6,3)	10,4§ (5,4)	8,8* (6,0)	19,6† (7,7)	17,7# (5,4)	8,2*§ (4,4)	9,0* (5,7)	19,3 (7,2)	18,3# (4,9)	10,5*§ (8,0)	8,2* (5,9)	14,2 (7,2)	14,5# (6,5)	11,1§ (9,3)	8,1 (3,9)
Cohen's <i>d</i>	0,09	0,03	0	0,25	1,1	0,74	0,54	0,24	0,81	0,75	0	0,11	0,05	0,07	0,02	0,4

* $p < 0,001$ em relação à Série 1

$p < 0,001$ em relação à Série 4

§ $p = 0,001$ em relação à Série 2

† $p < 0,05$ em relação ao período pré-suplementação

Legenda: BA= Beta-alanina; BIC = Bicarbonato; BA + BIC = Beta-alanina e Bicarbonato; PLA = Placebo; Cohen's *d*: trivial ($\geq -0,15$ and $< 0,15$); pequeno ($\geq 0,15$ and $< 0,40$); médio ($\geq 0,40$ and $< 0,75$); grande ($\geq 0,75$ and $< 1,10$); muito grande ($\geq 1,10$ and $< 1,45$); quase perfeito ($> 1,45$).

Tabela 13. Média (desvio padrão) da estimativa do gasto energético total (GET) entre os períodos de suplementação (n=40).

	BA				BIC				BA + BIC				PLA			
Séries	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
Pré-suplementação																
GET (kJ)	87,5* (7,6)	102,5 (9,9)	100,3 (9,6)	102,6 (12)	85,5* (11,2)	98,4 (15,5)	100,8 (15,0)	99,8 (19,5)	87,0* (14,4)	98,8 (12,8)	98,6 (13,4)	97,1 (10,8)	88,8* (16,4)	99,5 (12,4)	99,1 (13,9)	97,4 (18,9)
Pós-suplementação																
GET (kJ)	88,9* (11,5)	100,9 (11,3)	100,8 (6,1)	100,2 (9,6)	91,1* (16,0)	102,4 (14,0)	97,5 (12,8)	98,8 (12,3)	94,1* (16,2)	100,8 (12,7)	100,5 (15,2)	100,4 (12,5)	90,7* (16,2)	100,1 (11,0)	98,6 (14,3)	97,3 (17,4)

* p<0,001 em relação às demais séries

Legenda: BA= Beta-alanina; BIC = Bicarbonato; BA + BIC = Beta-alanina e Bicarbonato; PLA = Placebo.

Figura 15. Comparação entre a série 1 (S1), Série 2 (S2), Série 3 (S3) e Série 4 (S4) dos valores de delta (eixo superior) e da concentração (eixo inferior) de lactato sanguíneos entre os períodos de suplementação dos grupos 'BA + BIC' e 'PLA'

* $p < 0,001$ diferente das demais séries.

Legenda: BA + BIC = Beta-alanina e Bicarbonato; PLA = Placebo

5.2.3 Desempenho

A Figura 16 apresenta o resultado do tempo do *Time Trial* entre os grupos e períodos de suplementação. A análise do Modelo Misto não detectou efeito principal de “Grupo” ($F=0,13$; $P=0,9416$) ou “Período” ($F=0,83$; $P=0,3650$). O tamanho do efeito observado foi considerado pequeno ($d = 0,22$) para o grupo BA + BIC e trivial para os demais grupos (BA; $d = 0,01$; BIC; $d = 0,09$ e PLA; $d = 0,01$). Considerando a variação absoluta do tempo do *Time Trial*, a análise da variância com um fator também não identificou diferenças significantes no delta do tempo do *Time Trial* entre os grupos ($F=0,54$; $P=0,6568$; Figura 17) ou entre a variação percentual de melhora no tempo do *Time Trial* (BA: $0,5 \pm 14,7\%$; BIC: $1,3 \pm 10\%$; BA + BIC: $4,0 \pm 7,4\%$; PLA, $0,0 \pm 0,9\%$).

Os valores do índice de fadiga entre grupos nos momentos pré e pós-suplementação foram respectivamente; BA ($63,1 \pm 12,1\%$ vs $65,3 \pm 12,9\%$); BIC ($64,6 \pm 7,6\%$ vs $66,8 \pm 7,1\%$); BA + BIC ($58,6 \pm 14,9\%$ vs $57,1 \pm 14,9\%$); PLA ($59,3 \pm 13,9\%$ vs $60,6 \pm 13,0\%$). Os valores do tempo para completar metade do *Time Trial* foram ($26,4 \pm 6,1s$ vs $25,7 \pm 6,0s$); BIC ($27,4 \pm 4,7s$ vs $26,6 \pm 4,6s$); BA + BIC ($28,7 \pm 6,4s$ vs $28,3 \pm 7,3s$); PLA ($27,8 \pm 5,5s$ vs $27,3 \pm 7,2s$). A análise do Modelo Misto não identificou diferença estatística entre os períodos de suplementação para os valores de potência pico absoluta ($F=0,41$; $P=0,7435$), índice de fadiga ($F=1,89$; $P=0,1732$) ou no tempo para completar metade do *Time Trial*. ($F=2,42$; $P=0,1247$). A potência média, por outro lado, não apresentou diferença estatística, mas uma tendência ($P<0,06$) para um maior valor no grupo BA + BIC no período pós-suplementação (Figura 18, painel B).

A análise da inferência baseada em magnitude do tempo para completar o *Time Trial* é apresentada na Tabela 14. Os resultados mostraram que a beta-alanina quando suplementada juntamente com o bicarbonato de sódio (grupo, BA + BIC) é o tratamento que apresenta maior chance de ser positivo quando comparado ao teste pré-suplementação. As chances dos suplementos beta-alanina (grupo, BA) e bicarbonato (grupo, BIC) bem como do placebo (grupo, PLA) apresentarem efeito positivo foram de 24%, 40% e 12%, respectivamente. Os resultados da análise da inferência baseada em magnitude para o suplemento beta-alanina (grupo, BA), entretanto, parecem estar influenciados por um único *outlier*, que quando excluído da análise, eleva a chance da beta-alanina ser positiva para 69%.

Análises individuais do percentual de melhora no tempo to *Time Trial* mostraram que nos grupos BA e BA + BIC um total de 8 indivíduos melhoraram acima do percentual de variação do teste (3,6%). Já no grupo BA + BIC foram detectados 9 indivíduos enquanto no grupo PLA apenas 5 indivíduos registraram melhora acima do coeficiente de variação do teste. Os dados individuais podem ser observados mais detalhadamente na Figura 19, painel A.

5.3 Efeitos ergolíticos

Somente 11 dos 77 indivíduos relataram algum tipo de desconforto gastrointestinal que, segundo os voluntários, estavam diretamente relacionados à ingestão do suplemento da Fase 2 (bicarbonato de sódio ou placebo). A maior parte dos indivíduos sintomáticos estavam nos grupos BIC (5 voluntários) e BA + BIC (4 voluntários), além 2 voluntários no grupo 'PLA'. Não houve relatos de desconforto gastrointestinal no grupo BA.

Os principais sintomas relacionados foram arroto, enjoo, plenitude gástrica e desconforto intestinal. Com base na escala de desconforto gástrico de 10 pontos, somente um voluntário registrou valor de '8'. Os demais valores registrados não ultrapassaram 5 pontos na escala. De acordo com relatos dos 2 sujeitos do grupo placebo que apresentaram sintomas de desconforto gástrico, a ingestão do número elevado das capsulas (aproximadamente 30 cápsulas) e não o suplemento *per se*, seria o provável fator responsável pelos sintomas apresentados.

A Figura 19, Painel B apresenta a distribuição percentual individual do tempo para completar o *Time Trial*, entre os voluntários que apresentaram sintomas associados à suplementação na Fase 2 e àqueles assintomáticos. Apenas 2 dos 11 voluntários sintomáticos, sendo ambos do grupo 'BA+ BIC', apresentaram melhora acima do coeficiente de variação do teste de desempenho.

Apenas 5 voluntários relataram sintomas de parestesia, sendo que 2 deles estavam no grupo BIC, 3 no grupo BA + BIC e 2 no grupo PLA. Segundo os voluntários, a parestesia era distribuída de forma difusa pela corpo e com duração de 10-15 minutos após a ingestão, porém, não era percebida consistentemente em todas as doses ingeridas.

Figura 16. Tempo (s) para completar o *Time Trial* entre os períodos de suplementação (n = 77).

Legenda: BA= Beta-alanina; BIC = Bicarbonato; BA + BIC = Beta-alanina e Bicarbonato; PLA = Placebo; NS = não significante

Figura 17. Variação absoluta do tempo (s) para completar o *Time Trial* entre os períodos de suplementação (n = 77).

Legenda: BA= Beta-alanina; BIC = Bicarbonato; BA + BIC = Beta-alanina e Bicarbonato; PLA = Placebo. NS = não significante

Figura 18. Potência pico absoluta (W; painel A) e potência média (W; painel B) no *Time Trial* entre os períodos de suplementação. (n = 77).

‡ P<0,06 em relação ao período pré-suplementação no mesmo grupo

Legenda: BA= Beta-alanina; BIC = Bicarbonato; BA + BIC = Beta-alanina e Bicarbonato; PLA = Placebo.

Tabela 14. Inferência baseada na magnitude para o tempo do *Time Trial*. (n = 77).

Grupos	Chance da intervenção ser positiva (%)	Chance da intervenção ser trivial (%)	Chance da intervenção ser negativa (%)
BA	24%; <i>unlikely</i>	47%; <i>unlikely</i>	29%; <i>possibly</i>
BIC	40%; <i>possibly</i>	55%; <i>possibly</i>	6%; <i>unlikely</i>
BA + BIC	76%; <i>likely</i>	24%; <i>unlikely</i>	0%; <i>almost certainly not</i>
PLA	12%; <i>unlikely</i>	70%; <i>possibly</i>	18%; <i>unlikely</i>
BA (<i>outlier</i> excluído)	69%; <i>possibly</i>	31%; <i>possibly</i>	0%; <i>almost certainly not</i>

Legenda: BA= Beta-alanina; BIC = Bicarbonato; BA + BIC = Beta-alanina e Bicarbonato; PLA = Placebo.

5.4 Aderência à suplementação

Para o suplemento entregue aos voluntários na Fase 1, a aderência à suplementação correspondente ao grupo BA, BIC, BA + BIC, e PLA foram respectivamente de $96,7 \pm 5,2\%$, $97,1 \pm 4,3\%$, $96,9 \pm 3,3\%$ e de $97,9 \pm 6,3\%$. Não houve diferença estatística entre os grupos quanto à aderência à suplementação. O cálculo foi realizado com base na diferença do número de comprimidos entregues e devolvidos pelos voluntários, corrigido pelos dias em que deveria ocorrer a suplementação. A aderência observada para o suplemento da Fase 2 foi de 100% para todos os grupos, tendo em vista que a suplementação ocorreu de forma aguda, no laboratório e no dia do teste pós-suplementação e o controle pôde ser feito de forma visual e imediata pelos pesquisadores.

Figura 19. Variação relativa individual do tempo (s) para completar o *Time Trial* entre os períodos de suplementação (painel A). Variação relativa individual do tempo (s) para completar o *Time Trial* entre os indivíduos suplementados com bicarbonato de sódio e que relataram algum desconforto relacionado ao suplemento (painel B). **Legenda:** BA= Beta-alanina; BIC = Bicarbonato; BA + BIC = Beta-alanina e Bicarbonato; PLA = Placebo (n = 77). Linha pontilhada representa o coeficiente de variação (CV = 3,7%) do *Time-Trial*.

5.5 Eficácia do desenho duplo cego

No grupo BA, 40,3% dos voluntários identificaram corretamente o suplemento que estavam tomando na Fase 1, enquanto 15,9 % apontaram corretamente o suplemento da Fase 2, e somente 3 indivíduos acertaram ambos os suplementos. No grupo BIC, 39,5% conseguiram acertar o suplemento da Fase 1 e 31,7% na Fase 2, sendo que apenas 4 voluntários foram capazes de identificar ambos os suplementos. No grupo BA + BIC, 38,2% e 25% dos voluntários acertaram os suplementos das Fases 1 e 2 respectivamente enquanto 4 indivíduos identificaram corretamente ambos os suplementos. No grupo PLA, o percentual de voluntários que acertaram os suplementos na Fase 1 foi de 36,8% e de 31,5% na Fase 2, sendo que 4 indivíduos apontaram ambos os suplementos corretamente.

5.6 Segurança da suplementação

As Tabelas 15 e 16 apresentam os resultados dos exames clínicos realizados antes e após os períodos de suplementação. Não foi identificada qualquer alteração nos valores médios dos padrões clínicos de repouso após a suplementação entre o grupo de participantes que ingeriu beta-alanina e aqueles que consumiram placebo durante 28 dias de suplementação.

Tabela 15. Parâmetros clínicos sanguíneos dos voluntários que consumiram beta-alanina entre os períodos de suplementação (N = 33).

	Pré-Suplementação					Pós-Suplementação			
	Referência	Média	DP	Min	Máx	Média	DP	Min	Máx
Ácido Úrico (mg/dL)	3,4 – 7,0	5,7	0,9	4,2	7,2	5,6	1,2	3,6	7,8
Alanina Aminotransferase (U/L)	Inferior a 41	25,2	7,5	15,0	42,0	27,6	7,6	18,0	49,0
Fosfatase Alcalina (U/L)	40 - 129	57,3	14,5	37,0	97,0	56,6	14,8	37,0	97,0
Aspartato Amino transferase (U/L)	Inferior a 37	24,1	10,1	12,0	49,0	25,3	8,4	16,0	50,0
Creatino Fosfoquinase (U/L)	39 - 308	194,4	90,9	86,0	392,0	175,1	84,5	77,0	338,0
Creatinina (mg/dL)	0,7 - 1,2	1,0	0,2	0,7	1,3	0,9	0,2	0,7	1,3
Desidrogenase Láctica (U/L)	135 - 225	199,5	32,1	163,0	268,0	185,9	22,6	148,0	236,0
Proteínas Totais (g/dL)	6,6 - 8,7	7,4	0,3	6,9	7,9	7,6	0,4	6,8	8,5
Albumina (g/dL)	3,4 – 4,8	4,7	0,2	4,4	5,2	4,8	0,3	4,4	5,3
Globulina (g/dL)	1,7 – 3,5	2,5	0,3	2,0	3,0	2,7	0,3	2,1	3,3
Eritrócitos (milhoes/mm ³)	4,4 – 5,9	4,9	0,3	4,5	5,9	4,9	0,3	4,3	5,7
Hemoglobina (g/dL)	13 - 18	14,9	0,7	13,3	16,2	14,9	0,9	13,0	16,3
Hematócrito (%)	40 - 52	44,1	1,9	40,8	47,5	44,2	1,9	41,2	47,5
Leucócito (mil/mm ³)	4 - 11	6,3	1,4	3,6	9,8	6,1	1,3	3,6	8,0
Neutrófilo (mil/mm ³)	1,6 - 7	3,2	0,9	1,8	4,4	3,2	0,9	1,8	4,9
Bastonetes (mil/mm ³)	0 – 0,7	0,1	0,0	0,0	0,2	0,1	0,1	0,0	0,2
Segmentados (mil/mm ³)	1,3 – 7	3,0	0,9	1,7	4,3	3,2	0,8	1,7	4,7
Eosinófilos (mil/mm ³)	0,05 – 0,5	0,2	0,1	0,0	0,4	0,1	0,1	0,0	0,3
Basófilos (mil/mm ³)	0 – 0,2	0,01	0,02	0,00	0,04	0,01	0,02	0,00	0,07
Linfócitos (mil/mm ³)	0,9 – 3,4	2,4	0,7	1,2	4,4	2,3	0,6	1,2	3,3
Monócitos (mil/mm ³)	0,2 – 0,9	0,5	0,2	0,1	0,9	0,5	0,2	0,1	0,8
Plaquetas (mil/mm ³)	140 - 450	227,4	47,9	110,0	317,0	218,8	49,7	134,0	308,0

Tabela 16. Parâmetros clínicos sanguíneos dos voluntários que consumiram placebo entre os períodos de suplementação (N = 33).

	Pré-Suplementação					Pós-Suplementação			
	Referência	Média	DP	Min	Máx	Média	DP	Min	Máx
Ácido Úrico (mg/dL)	3,4 – 7,0	5,6	0,8	4,2	7,2	5,7	1,2	3,6	7,8
Alanina Aminotransferase (U/L)	Inferior a 41	24,2	7,0	15,0	42,0	25,6	7,6	18,0	49,0
Fosfatase Alcalina (U/L)	40 - 129	56,3	13,2	36,0	97,0	55,6	14,8	36,0	97,0
Aspartato Amino transferase (U/L)	Inferior a 37	24,5	10,9	12,0	49,0	25,3	8,4	16,0	50,0
Creatino Fosfoquinase (U/L)	39 - 308	193,4	89,9	86,0	392,0	180,1	83,5	76,0	338,0
Creatinina (mg/dL)	0,7 - 1,2	1,0	0,2	0,7	1,3	0,9	0,2	0,7	1,3
Desidrogenase Lática (U/L)	135 - 225	198,5	31,5	163,0	268,0	185,9	22,6	148,0	236,0
Proteínas Totais (g/dL)	6,6 - 8,7	7,4	0,3	6,9	7,9	7,5	0,4	6,8	8,5
Albumina (g/dL)	3,4 – 4,8	4,8	0,2	4,4	5,2	4,8	0,3	4,4	5,3
Globulina (g/dL)	1,7 – 3,5	2,6	0,3	2,0	3,0	2,7	0,3	2,1	3,3
Eritrócitos (milhoes/mm ³)	4,4 – 5,9	4,8	0,3	4,5	5,9	4,9	0,3	4,3	5,7
Hemoglobina (g/dL)	13 - 18	15,0	0,7	13,3	16,2	14,9	0,9	13,0	16,3
Hematócrito (%)	40 - 52	43,1	1,9	40,8	47,5	44,2	1,9	41,2	47,5
Leucócito (mil/mm ³)	4 - 11	6,3	1,4	3,6	9,8	6,1	1,3	3,6	8,0
Neutrófilo (mil/mm ³)	1,6 - 7	3,0	0,9	1,8	4,4	3,2	0,9	1,8	4,9
Bastonetes (mil/mm ³)	0 – 0,7	0,1	0,0	0,0	0,2	0,1	0,1	0,0	0,2
Segmentados (mil/mm ³)	1,3 – 7,	3,1	0,9	1,7	4,3	3,2	0,8	1,7	4,7
Eosinófilos (mil/mm ³)	0,05 – 0,5	0,2	0,1	0,0	0,4	0,1	0,1	0,0	0,3
Basófilos (mil/mm ³)	0 – 0,2	0,01	0,02	0,00	0,04	0,01	0,02	0,00	0,07
Linfócitos (mil/mm ³)	0,9 – 3,4	2,3	0,7	1,2	4,4	2,3	0,6	1,2	3,3
Monócitos (mil/mm ³)	0,2 – 0,9	0,5	0,2	0,1	0,9	0,5	0,2	0,1	0,8
Plaquetas (mil/mm ³)	140 - 450	225,4	47,9	110,0	317,0	220,8	49,7	134,0	308,0

6 DISCUSSÃO

O presente estudo se baseou na premissa de que a coingestão de beta-alanina com bicarbonato de sódio resultaria no aumento da concentração intramuscular de carnosina (não determinado aqui diretamente) e no aumento circulante das concentrações de bicarbonato. Assim, a ação de tamponamento intracelular da carnosina e a ação extracelular do bicarbonato seriam aditivos, resultando em aumento da proteção contra a acidose produzida durante o exercício de alta intensidade com solicitação dos membros inferiores (ex: ciclismo, triatlão, etc), como sugerido por Hill et al. (2007). Nossa hipótese é a de que isto resultaria em aumento da atividade glicolítica e, portanto, com concomitante melhora no desempenho em comparação à ingestão isolada de beta-alanina ou bicarbonato.

Este estudo é o primeiro a investigar o efeito da suplementação combinada de beta-alanina e bicarbonato de sódio sobre a contribuição dos sistemas energéticos. Além disso, a natureza singular deste trabalho destaca-se também, ao contribuir para complementar as lacunas científicas que tratam das seguintes particularidades; 1) investigação da ação da suplementação de substâncias tamponantes sobre os sistemas energéticos em exercício de característica intermitente; 2) caracterização do perfil energético de um exercício intermitente; 3) padronização de um modelo de teste para induzir a acidose durante o exercício; 4) padronização de um modelo de teste de desempenho do tipo *Time Trial* para o estudo de protocolos de acidose; 5) investigação da ação combinada de suplementos tamponantes sobre o desempenho; 6) investigação dos efeitos colaterais e da resposta clínica sanguínea após a suplementação de tamponantes e em resposta ao exercício.

6.1 Eficácia da suplementação sobre o metabolismo energético

O principal achado deste estudo foi o de que a suplementação combinada e simultânea de beta-alanina e bicarbonato de sódio não provocou modificações adicionais do metabolismo energético durante o exercício intermitente e de alta intensidade. Por outro lado, a suplementação isolada de bicarbonato de sódio levou a uma mudança significativa da contribuição glicolítica tanto absoluta quanto relativa na primeira série do exercício intermitente após a suplementação. Esta mudança representou aumento na contribuição glicolítica absoluta de $9,9 \pm 7,2$ kJ para $18,7 \pm 9,4$ kJ após a suplementação, o que corresponde a uma contribuição relativa de $11,1 \pm 6,5\%$ e $19,6 \pm 7,7\%$, respectivamente. Tendo em vista que não há estudos que

investigaram a contribuição dos sistemas energéticos decorrentes da suplementação combinada de beta-alanina e bicarbonato de sódio, as comparações com trabalhos desta natureza são limitadas.

Entretanto, é bem estabelecido que o sistema bicarbonato é o principal tampão extracelular e há algumas décadas, experimentos têm demonstrado os efeitos da ingestão de bicarbonato de sódio pré-exercício sobre o metabolismo energético (COSTILL et al., 1984; GAO et al., 1988). Por meio de biópsia, Bouissou et al. (1988) observaram que, no momento da fadiga, a concentração muscular de lactato era de 31,7 mM para o grupo que ingeriu a solução alcalina e de 17 mM para o placebo, indicando maior capacidade de produção muscular de lactato. Hollidge-Horvat et al. (2000) demonstraram que a ingestão de bicarbonato de sódio resultou em maior atividade da enzima glicogênio fosforilase com consequente aumento na utilização de glicogênio.

Mais especificamente aos exercícios de característica intermitente, Costill et al. (1984) também realizaram biópsia muscular e viram que o pH na fadiga era 6,81 para o grupo que ingeriu bicarbonato e 6,73 para o controle, indicando uma discreta melhora na manutenção do equilíbrio ácido-base. Mais recentemente, Bishop et al. (2004) demonstraram que a maior concentração do lactato muscular (~76%) após o exercício intermitente, sugere uma maior contribuição energética do metabolismo anaeróbico resultante da indução da alcalose (bicarbonato de sódio), tendo em vista que a redução acentuada do pH intramuscular poderia exercer efeitos inibitórios sobre a glicogenólise e a glicólise.

Nesse sentido, o principal mecanismo associado ao aumento da contribuição glicolítica após a indução da alcalose propõe que o aumento das concentrações extracelulares de bicarbonato, eleva o gradiente do pH nos compartimentos intra e extracelulares, o que gera maior efluxo transmembrana dos íons H^+ do músculo para o sangue, onde são tamponados (BISHOP et al., 2004; HIRCHE et al., 1975; MAINWOOD; WORSLEY-BROWN, 1975). De fato, diversos estudos confirmam o aumento da capacidade de tamponamento sanguíneo após o consumo de bicarbonato de sódio antes do exercício através do aumento do pH, do bicarbonato e do excesso de base sanguíneos de repouso (KATZ et al., 1984; ROBERGS et al., 2004; SAUNDERS et al., 2014; STANNARD et al., 2016).

No presente estudo, a capacidade de tamponamento do sangue foi maior ($P < 0,001$) antes de iniciar o exercício intermitente nos dois grupos que ingeriram bicarbonato de sódio (BIC e BA + BIC). Isto é confirmado pela maior concentração sanguínea de pH, de bicarbonato e de excesso de base no momento pós-ingestão (Fase 2) do período pós-suplementação comparados ao repouso. Os valores de pH em alcalose estavam aproximadamente 0,06 unidades acima dos valores observados no mesmo momento quando não houve intervenção da suplementação. Esta variação ácido-base no sangue é similar (0,07) aos valores apresentados por outros estudos que utilizaram dose semelhante (0,3g/kg de massa corporal) de bicarbonato de sódio (INBAR et al, 1983; PARRY-BILLINGS; MACLAREN, 1986; WILKES, GLEDHILL, SMYTH, 1983).

Além disso, a média dos valores de pH, bicarbonato e excesso de base sanguíneos estavam significativamente maiores após o exercício intermitente no período pós-suplementação nos grupos suplementados com bicarbonato de sódio. Este é um resultado particularmente interessante porque confirma o melhor controle ácido-base após a indução da alcalose, o que resultou no aumento da contribuição glicolítica, frente a situações idênticas quanto ao controle do trabalho das séries.

Com o intuito de verificar o efeito da alcalose sobre as variações de desempenho como a potência e o trabalho total, grande parte dos estudos utilizam protocolos que não controlam a intensidade e trabalho produzido durante o exercício (De SALES PAINELLI et al., 2009; SALE et al., 2011; TOBIAS et al., 2013). Isso, por si só, altera a atividade do metabolismo muscular e, por sua vez, a contribuição percentual dos sistemas energéticos e dificulta a interpretação dos dados quanto aos possíveis efeitos da alcalose no metabolismo.

Corroborando os achados descritos anteriormente, houve no presente estudo uma ligeira redução na contribuição energética absoluta tanto do sistema oxidativo como do sistema ATP-CP também na série 1 no período pós-suplementação para o grupo que suplementou com bicarbonato de sódio. Esta redução, entretanto, foi estatisticamente significativa ($P < 0,05$) apenas na contribuição relativa do sistema ATP-CP (PRE; $41,2 \pm 4,1\%$ vs PÓS; $36,9 \pm 2,9\%$). A contribuição do sistema ATP-CP é associada à capacidade de ressíntese de CP no intervalo do exercício que se relaciona, por sua vez, à curva do consumo de oxigênio de recuperação.

Os reais efeitos da acidose sobre a resíntese de CP ainda é controverso (HARRIS et al., 1976; BALSON et al., 1992), contudo, tendo em vista a discreta diferença no custo energético absoluto do sistema ATP-CP entre os momentos de suplementação no grupo BIC do presente estudo (Tabela 11), é provável que a diferença relativa observada represente, apenas, um ajuste compensatório do aumento da contribuição do sistema glicolítico. Estudo realizado por Sahlin, Harris e Hultman (1979) indica que a ressíntese de CP está relacionada tanto com o oxigênio disponível quanto com o transporte de H^+ para fora do músculo, no entanto, o pH muscular teria uma mínima influência sobre a ressíntese de ATP via CP durante os primeiros minutos de recuperação, comparado ao suprimento de oxigênio para a mitocôndria.

No presente estudo, embora não tenha sido identificada diferença estatística, a contribuição glicolítica tanto absoluta como relativa também aumentou na primeira série do teste pós-suplementação (Tabela 12) no outro grupo que ingeriu bicarbonato de sódio em conjunto com beta-alanina (BA + BIC). Esses dados sugerem que, de fato, a alcalose metabólica induzida pela suplementação de bicarbonato de sódio é capaz de estimular uma mudança no metabolismo energético durante o exercício intermitente sinalizando maior utilização da via glicolítica. Nessa perspectiva, se de fato, ocorreu um aumento do efluxo de íons H^+ intramuscular em consequência da alcalose sanguínea, a suplementação combinada de beta-alanina, entretanto, não teria causado maior magnitude deste transporte de forma suficiente para afetar a atividade de enzimas chave da via glicolítica.

Tendo em vista a natureza relativamente impermeável do bicarbonato ao sarcolema (ROBIN, 1961) parece improvável que ocorra aumento da capacidade tamponante intramuscular decorrente da ingestão oral de bicarbonato de sódio (ADLER; ROY; RELMAN, 1965; BISHOP et al., 2004). Porém, é bem conhecido na literatura que a suplementação de beta-alanina é capaz de aumentar as concentrações endógenas de carnosina (HILL et al., 2007), um dipeptídeo (beta-alanina e histidina) cuja ação mais bem documentada é a de tamponante intramuscular (HARRIS et al., 2006; STELLINGWERFF et al., 2012; ARTIOLI et al., 2010; LANCHETA JR et al., 2015).

Do ponto de vista do metabolismo energético, até o presente momento, não consta na literatura estudos que investigaram os efeitos da suplementação de beta-

alanina, combinada ou não com outro mecanismo de indução da alcalose, sobre a contribuição dos sistemas, sobretudo dos intermediários da via glicolítica. Nesse sentido, a concentração do lactato sanguíneo representa uma estimativa importante, ainda que indireta do metabolismo anaeróbio. Enquanto alguns trabalhos observaram significativo aumento do lactato sanguíneo após indução de alcalose (ARTIOLI et al., 2007; WILKES; GLEDHILL; SMYTH, 1983), outros encontraram apenas uma tendência não significativa ou nenhuma diferença entre os tratamentos (HORSWILL et al., 1988; TOBIAS et al., 2013).

No presente estudo, houve aumento significativo da concentração de lactato sanguíneo após a segunda série do teste intermitente do período pós-suplementação no grupo que ingeriu apenas bicarbonato de sódio (BIC). O mesmo aumento foi observado para o delta da concentração de lactato entre a série 1 e a série 2. Ao final da série 4 (momento pós-intermitente), o lactato estava ligeiramente mais elevado ($P=0,06$) em ambos os grupos que ingeriram bicarbonato de sódio (BIC e BA + BIC), porém não foi diferente estatisticamente entre os períodos de suplementação. O aumento da concentração de lactato nas séries iniciais do exercício intermitente corrobora os achados de estudos discutidos anteriormente nos quais o aumento da alcalose sanguínea sinaliza maior participação da via glicolítica.

É razoável supor, portanto, que esta maior concentração de lactato plasmático indica aumento da produção de lactato pelo músculo através da melhor atividade de enzimas (glicogênio fosforilase, fosfofrutoquinase e lactato desidrogenase) e utilização de substrato energético (glicogênio muscular) a partir de melhor controle ácido-base intramuscular (BOUISSOU et al., 1988). Entretanto, é preciso considerar que a maior concentração de lactato sanguíneo pode também apenas sinalizar maior efluxo de lactato do músculo esquelético decorrente do aumento da alcalose extracelular (HIRCHE et al., 1975; MAINWOOD; WORSLEY-BROWN, 1975). É provável que o próprio gradiente de concentração do lactato extracelular seja capaz de manipular a taxa de efluxo do lactato para a circulação durante o exercício (JORFELDT, 1970).

O mecanismo exato da cinética e da regulação do efluxo de hidrogênio e lactato na forma iônica para fora do músculo ainda não é completamente compreendido, mas pode ajudar a esclarecer o fato de que no presente estudo, a beta-alanina *per se*, ou em associação com o bicarbonato de sódio não provocou

mudanças significativas na contribuição do sistema glicolítico. Estudos *in vitro* demonstram que a recuperação do pH intramuscular tende a ocorrer mais rapidamente do que o efluxo de lactato para o sangue e fluidos extracelulares (BENADE; HEISLER, 1978). Em humanos, Sahlin e colaboradores (1976) também demonstraram que durante a recuperação de exercício exaustivo em bicicleta, o efluxo para o H^+ era mais rápido comparado aos íons de lactato. Cabe especular, assim, que o efeito da ação de tamponantes extracelulares seja mais facilmente detectada do que variações em nível intracelular. Dessa forma, é provável que os métodos que tiverem por característica, a análise de metabólitos extracelulares, sejam também mais sensíveis em detectar alterações a partir de variações no tamponamento extracelular.

Alguns estudos sugerem, ainda, que a taxa de efluxo do lactato aumentaria linearmente com o conteúdo intramuscular de lactato durante o exercício submáximo em bicicleta até uma concentração de 20 mmol.kg^{-1} de músculo seco, de modo que haveria saturação do processo de translocação de lactato para aumento superiores àquele (JORFELDT; JUHLIN-DANNFELT; KARLSSON, 1978). Uma saturação do efluxo de lactato poderia, de fato, subestimar a estimativa de uma possível contribuição glicolítica adicional advinda da suplementação da beta-alanina, já que a beta-alanina não teria efeitos sobre o tamponamento dinâmico, o qual é em grande parte realizado por proteínas denominadas transportadores monocarboxilato (MCTs), que são responsáveis por realizar o transporte de lactato para o sangue (MCT4) e do sangue para as células musculares (MCT1) (JUEL, 2001).

A mensuração da atividade dos transportadores monocarboxilatos, bem como a taxa de oxidação de lactato e a taxa de efluxo de H^+ são, entretanto, limitações deste estudo uma vez que não foi realizada coleta de amostras musculares. Assim, apesar da concentração de lactato plasmático no presente estudo ter aumentado significativamente ao longo do exercício e o delta de lactato ser menor na última série do grupo que ingeriu beta-alanina, não há como assegurar que a taxa de translocação de lactato estava próxima dos valores de saturação.

Vale lembrar que os mamíferos possuem mecanismos diversos para manutenção do pH intra e extracelulares dentro dos valores fisiológicos. Especialmente no meio intracelular, o tamponamento é realizado também por fosfatos ($H_2PO_4^-$ e o HPO_4^-), proteínas, peptídeos e aminoácidos, ou seja, o

tamponamento realizado pela carnosina representa apenas uma parte do controle ácido base intracelular. Um aumento típico da concentração da carnosina no músculo a partir da suplementação de beta-alanina corresponde entre 60-80%, o que estima-se elevar a contribuição da carnosina para o tamponamento de H^+ do músculo em aproximadamente 2,7 – 5,3 mEq. H^+ de músculo seco. Isto representaria um aumento estimado de 3 a 5% da capacidade tamponante muscular (HARRIS et al., 2006).

Embora os efeitos da suplementação de beta-alanina não tenham provocado mudanças significativas no metabolismo energético, a ação tamponante da carnosina durante o exercício, por outro lado, não pode ser negligenciada. O grupo químico imidazol encontrado nos resíduos de histidina das proteínas, nas moléculas livres de L-histidina e nos dipeptídeos que contêm histidina, tais como carnosina são os maiores componentes tamponantes no músculo esquelético humano. (PARKHOUSE; MCKENZIE, 1984). O fato do pK do grupo imidazol da carnosina, cujo nitrogênio presente em seu anel pode ser protonado em pH fisiológico, ser bastante próximo dos valores fisiológicos de pH intracelular faz com a carnosina seja um impelido tampão intracelular, sobretudo diante da acidose muscular (não determinado aqui diretamente) induzida durante o exercício intermitente de alta intensidade.

6.2 Reprodutibilidade do exercício intermitente de indução da acidose

Outro importante resultado obtido por este estudo foi a padronização de um protocolo de exercício capaz de provocar acidose de forma consistente. Isso é particularmente importante também do ponto de vista do metabolismo energético, porque a literatura carece de estudos que atestem a consistência da medida da contribuição dos sistemas energéticos, sobretudo, para protocolos de características intermitentes que tiveram a carga e o trabalho controlados.

A utilização dos suplementos beta-alanina e bicarbonato de sódio é normalmente indicada para exercícios que tem o desempenho limitado não só mas, principalmente, pela redução do pH muscular, haja vista a maior eficiência na capacidade tamponante dos sistemas fisiológicos obtida através do aumento das concentrações intra e extra musculares de carnosina e bicarbonato de sódio, respectivamente (HARRIS et al., 2006; SALE et al., 2011). No presente estudo, o

protocolo do exercício intermitente foi estruturado com o intuito de induzir uma acidose para que fosse possível observar a eficácia dos suplementos tamponantes.

Um modelo de teste apropriado para induzir a acidose, entretanto, deve ser estruturado com intensidade suficiente para provocar modificações importantes nos mecanismos de tamponamento fisiológicos, dentre elas, o aumento substancial das concentrações de lactato, de íons H^+ e redução do pH sanguíneo e muscular (SAUNDERS et al., 2013). A tentativa de manutenção do pH intra e extracelulares dentro dos valores fisiológicos, provoca também reduções dos valores sanguíneos de bicarbonato e de excesso de base (ROBERGS; CHIASVAND; PARKER, 2004). Neste estudo, o protocolo para induzir a acidose consistiu de um exercício intermitente em bicicleta composto por 4 séries de 1 minuto com intervalos de 1 minuto entre as séries, carga a 110% da potência aeróbia máxima e cadência constante (100 rpm).

Durante as familiarizações, ou seja, quando nenhuma intervenção com suplementos havia sido feita, os valores de pH (Figura 3, painel A), bicarbonato (Figura 3, painel B) e excesso de base (Figura 4, painel B) estavam significativamente mais baixos ($p < 0,001$) após a quarta série em relação ao repouso e permaneceram reduzidos após 10 minutos de repouso passivo. Utilizando modelo de exercício semelhante, composto por 5 séries de 1 minuto com intervalos de 1 minuto entre as séries e carga à 100% da potência aeróbia máxima, Morris et al. (2011) também observaram reduções nos valores médios de pH ($7,33 \pm 0,05$ vs $7,22 \pm 0,05$) e de bicarbonato ($27,98 \pm 2,26$ mmol/L vs $18,23 \pm 2,27$ mmol/L) com concomitante aumento do lactato sanguíneo ($1,00 \pm 0,54$ mmol/L vs $14,32 \pm 2,31$ mmol/L) ao final da última série comparado ao repouso, quando os voluntários realizaram o teste sem o consumo de nenhum suplemento. Em dois outros estudos, Saunders et al. (2014) e Ducker, Dawson e Wallman (2013) encontraram respostas semelhantes das variáveis sanguíneas indicando acidose quando utilizaram modelo de exercício com múltiplos *sprints* em intervalos regulares, na tentativa de simular o perfil intermitente das modalidades esportivas.

Embora estes resultados indiquem a capacidade de um protocolo induzir quadro de acidose, é necessário assegurar que os dados encontrados são reproduzíveis e não representam apenas uma variação natural do teste. A reprodutibilidade de um protocolo deve refletir, portanto, a consistência dos dados

quando as avaliações são realizadas em múltiplas ocasiões sobre condições idênticas (HOPKINS; HAWLEY; BURKE, 1999).

No presente estudo foram realizadas três sessões experimentais antes do início da intervenção com suplementação, sendo, duas familiarizações e o teste pré-suplementação, cujos dados foram utilizados para a avaliação da reprodutibilidade das variáveis. Na comparação entre as sessões de familiarização e o teste pré-suplementação, não houve qualquer diferença estatística para as respostas sanguíneas de pH, bicarbonato e excesso de base. As variáveis sanguíneas foram similares inclusive no repouso indicando que os voluntários apresentavam condições semelhantes antes do teste.

O lactato sanguíneo também aumentou significativamente em relação ao repouso em todas as condições no presente estudo (Figura 4, painel A) e não foi estatisticamente diferente entre as familiarizações e o teste pré-suplementação em nenhum momento. Embora alguns autores sugiram que o lactato *per se* não exerce nenhum efeito direto sobre os processos contráteis ou de transferência de energia, fornece bases importantes para destacar a elevada produção de H^+ resultante do exercício intenso, que tem capacidade de inibir enzimas da via glicolítica, além de prejudicar diversas etapas do processo contrátil (BISHOP et al., 2004). O monitoramento do lactato sanguíneo atesta também a adequabilidade da intensidade do exercício utilizada no protocolo de indução da acidose.

O lactato aumentou significativamente na primeira série em relação ao repouso e nas séries seguintes em relação às demais. O delta de lactato entre as séries, por sua vez, foi menor somente na última série em comparação às demais. Também não houve diferença estatística para os valores de concentração e delta de lactato entre as familiarizações e o teste pré-suplementação (Figura 11). A reprodutibilidade desta variável é importante porque a contribuição do sistema glicolítico e, por sua vez, do gasto energético total, é dependente diretamente da diferença entre o maior e o menor valor de lactato, de forma que uma grande variabilidade desta medida poderia confundir os resultados.

6.3 Perfil energético do exercício intermitente

A investigação dos sistemas energéticos através do método proposto por di Prampero e Ferretti (1999) é algo recorrente na literatura, contudo, grande parte dos estudos utilizou o exercício contínuo como modelo experimental. Mello et al. (2009),

por exemplo, demonstraram que o metabolismo oxidativo é predominante (~ 84%) durante uma prova de remo de 2000 m, sendo que a participação entre os sistemas não foi diferente quando a prova foi realizada na água ou simulada em ergômetro. Beneke et al. (2002) confirmaram a característica anaeróbia do teste de *Wingate*, bem como a maior participação da via glicolítica (20% aeróbio, 30% ATP-CP, 50% glicolítico).

Dentre os estudos que apresentaram resultados do perfil energético de atividades intermitentes, Franchini et al. (2011) investigaram atletas de judô durante teste físico com exigências metabólicas semelhantes a uma luta e observaram a maior contribuição do sistema ATP-CP (42,3%), quando comparado aos sistemas oxidativo (28,2 %) e glicolítico (29,5%). Recentemente, Lopes-Silva et al. (2015) investigaram a contribuição dos sistemas energéticos durante uma atividade intermitente que também simulava uma luta, neste caso de *Taekwondo*, que consistia de 3 *rounds* de 2 minutos com 1 minuto de intervalo. Os autores reportaram que a contribuição do sistema oxidativo e ATP-CP era maior nos *rounds* finais enquanto que a contribuição glicolítica diminuía em comparação ao primeiro *round*. Estes resultados estão de acordo com os apresentados por Campos et al. (2012) que também observaram predominância da contribuição aeróbia e menor participação do sistema ATP-CP e glicolítico durante a luta de *Taekwondo*.

No presente estudo, os resultados mostraram que o custo energético do modelo de exercício intermitente utilizado para a indução da acidose advém em sua maior parte do sistema oxidativo (45 - 55%), seguido do sistema ATP-CP (35 - 40%) e do glicolítico (8 - 15%). Corroborando os achados dos estudos anteriores, observa-se, ainda, maior participação dos sistemas oxidativo e ATP-CP com redução da contribuição do sistema glicolítico nas séries 3 e 4 em comparação às séries iniciais (Figura 10). Estes resultados dão suportes adicionais a sugestões anteriores de que o pH muscular teria menor influência sobre a CP durante os primeiros minutos de recuperação de um exercício intermitente e que o fornecimento de oxigênio à mitocôndria seria de maior importância (SAHLIN; HARRIS; HULTMAN, 1979).

De fato, estudos demonstram que a oclusão da circulação por 4 minutos durante a recuperação de séries consecutivas de 30 segundos de força isocinética máxima, pode tanto reduzir a taxa de ressíntese de CP (LEE et al., 1987) bem como afetar em aproximadamente 15% o trabalho total das séries subsequentes. Bogdanis

et al. (1996) encontraram que a contribuição aeróbia era maior no segundo *sprint* de 30 segundos (49%) em comparação ao primeiro *sprint* de 10 segundos (34%) em um cicloergômetro após um intervalo de 4 minutos. Os segundos de recuperação observados em atividades intermitentes, ainda que relativamente curtos, parecem propiciar a maior participação do metabolismo aeróbio ao mesmo tempo em que permite a resíntese de CP (HARRIS et al., 1976).

No presente estudo, a queda do pH observada ao final do exercício intermitente sugere que a redução da contribuição glicolítica pode ter ocorrido devido à inibição da atividade enzimática de enzimas como a fosforilase e fosfofrutoquinase (FABIATO; FABIATO, 1978). Gaitanos et al. (1993) investigaram os efeitos de 10 *sprints* máximos de 6 segundos com intervalos de 30 segundos sobre o metabolismo e observaram uma redução do pH sanguíneo (7,10) e muscular (~6,6) no último *sprint*. De acordo com os autores, a acidose intramuscular estava relacionada à redução expressiva na contribuição da via glicolítica no *sprint* final com concomitante aumento das vias oxidativas e ATP-CP.

Não observamos, no presente estudo, diferença estatística entre as familiarizações em nenhuma das séries (Tabela 4), indicando boa consistência das medidas de contribuição dos sistemas energéticos entre os períodos e as séries. Entretanto, o gasto energético total encontrado na primeira série foi inferior em aproximadamente 15 kJ quando comparada às demais. Tendo em vista que o modelo de exercício intermitente utilizado neste estudo era considerado “fechado”, ou seja, com trabalho total controlado, esperava-se uma similaridade que se refletisse também no gasto energético total. Em geral, o gasto energético total em cada série se manteve em torno de 100 kJ. O ligeiro aumento observado em relação à primeira série pode estar relacionado a uma menor eficiência mecânica pela ação de mecanismos de fadiga. Embora, os reais efeitos da acidose sobre os processos contráteis não possam ser determinados neste trabalho, estudos anteriores também observaram aumento significativo do gasto energético total, provavelmente decorrente de uma menor eficiência mecânica provocada pela fadiga durante o exercício intermitente de alta intensidade (LOPES-SILVA et al., 2015).

Para a determinação da contribuição do sistema ATP-CP é necessário ter conhecimento acerca do domínio de intensidade da atividade. Quando isso não é possível, o método requer a aplicação de um ajuste monoexponencial ou

biexponencial da curva de recuperação do consumo de oxigênio para a determinação do sistema ATP-CP. McCreary et al. (1996) realizaram o primeiro estudo comparando a cinética intracelular *on* e *off* de CP com a cinética do VO_2 pulmonar durante o exercício em humanos e concluíram que a constante de tempo (τ) da resposta *off* do VO_2 pulmonar é temporalmente similar à (τ) da ressíntese da CP durante a recuperação no exercício de flexão plantar.

Para a realização do cálculo da contribuição alática, entretanto, os dados de VO_2 da curva de recuperação são interpolados e ajustados para um modelo logaritmo linear que dependendo do exercício pode ser mono ou biexponencial. McCreary et al. (1996) abordam que a ressíntese de CP é razoavelmente descrita por um ajuste monoexponencial após exercício de baixa intensidade (abaixo do limiar de acidose intracelular) e que as alterações de pH intramuscular promovidas pelo exercício tendem a tornar a cinética da ressíntese da CP mais lenta. Entretanto, o domínio de intensidade do exercício, nem sempre consegue caracterizar fielmente o tipo de modelagem (monoexponencial vs biexponencial) a ser utilizada no cálculo da contribuição do sistema ATP-CP. A comparação e a escolha do modelo que apresenta os mais baixos valores residuais é o procedimento mais adequado a ser utilizado (ARTIOLI et al., 2012).

Com base nos resultados do presente estudo, estima-se que a ressíntese da CP durante a recuperação da última série tem um comportamento monoexponencial. De fato, quando o teste *F* foi utilizado para identificar o tipo de modelagem matemática que gerou a menor somatória de resíduos produzidos pelos ajustes monoexponencial e biexponencial, não houve diferença entre os modelos (Figura 9) e, então, o comportamento da CP durante a recuperação foi expressa pela modelagem matemática para o ajuste monoexponencial. Este dado é importante porque ajuda a caracterizar o protocolo do teste intermitente utilizado neste estudo dentro de um perfil metabólico de esforço, de modo que os estudos futuros que desejarem utilizar um exercício intermitente que apresente uma característica monoexponencial na curva de consumo de oxigênio terão, neste protocolo, um modelo tipificado e apropriado.

Embora o método utilizado no presente estudo possa representar uma estimativa satisfatória da contribuição dos sistemas, há certamente de se considerar algumas limitações. Primeiramente, os dados tem que ser analisados com cautela,

tendo em vista que a demanda metabólica do músculo ativo, não pode ser estimada com base na análise da resposta fisiológica do corpo como um todo, o equivalente de oxigênio da concentração de lactato não representa uma relação estequiométrica exata da formação de lactato e resíntese de ATP. A relação equivalente de 3 mlO₂kg/mmol/lactato tem sido utilizada de forma empírica para permitir a estimativa da liberação de energia, desde que a concentração de lactato se acumule a uma quantidade acima daquela dos valores basais (DI PRAMPERO; FERRETTI, 1999). Assim, a utilização de relações diferentes desta pode superestimar a contribuição glicolítica (HUNTER; SEELHORST; SNYDER, 2003; MAZZETTI et al., 2007). Como mencionado anteriormente, vale considerar a aplicação prática do método e, embora apresente limitações, é uma alternativa importante na determinação dos componentes do metabolismo anaeróbio, tendo em vista a condição mínima de estresse em que o participante é inserido.

6.4 Reprodutibilidade do teste de desempenho (*Time Trial*)

Mais um importante resultado deste estudo, trata da padronização de um método do tipo contra-relógio para avaliar o desempenho. Isto é particularmente importante porque grande parte dos trabalhos que investigaram o efeito de substâncias tamponantes sobre o desempenho, utilizou o protocolo de tempo até a exaustão (DANAHER et al., 2014; HILL et al., 2007; SALE et al., 2011). Tendo em vista que o coeficiente de variação em protocolos desta natureza pode chegar a 10% (COGGAN; COSTILL, 1984; GRAHAM; MCLELLAN, 1989; HIGGINS; JAMES; PRICE, 2013; MCLELLAN; CHEUNG; JACOBS, 1995), o desenvolvimento de métodos que apresentem variações inferiores, contribui para que a eficácia dos tratamentos seja identificada mais consistentemente. Entretanto, os resultados obtidos dos múltiplos testes e análises, mesmo que não diferentes estatisticamente, vão sempre apresentar algum grau de erro de medida devido a fatores diversos, sejam estes inerentes ao pesquisador, instrumento ou ao próprio voluntário (WEIR, 2005). Atkinson e Nevill (1998) descrevem a reprodutibilidade como a quantidade de erro medido que pode ser considerado aceitável para o uso prático e eficaz de um sistema de análise.

Este contexto é particularmente importante para o estudo das variáveis de desempenho observadas a partir de uma intervenção nutricional. Por exemplo, Tobias et al. (2013) observaram melhora de 7% no trabalho total de um teste

intermitente para os membros superiores após a suplementação de beta-alanina e de 14% quando a suplementação foi combinada ao bicarbonato de sódio. Os autores, entretanto, realizaram uma única sessão de familiarização e não avaliaram o coeficiente de variação entre as condições experimentais. Van Montfoort et al., (2004), por outro lado, reportaram valores de variação inter (23%) e intrassujeitos (8%) elevados para efeito da suplementação de lactato de cálcio de apenas 1,7% encontrado no teste de corrida até a exaustão. Se considerarmos que o percentual de melhora esperado no desempenho (~ 2%) com o uso de substâncias tamponantes, como o bicarbonato de sódio, por exemplo, é relativamente baixo (CARR, HOPKINS; GORE, 2011), se torna indispensável assegurar que qualquer melhora observada seja, de fato, decorrente da suplementação e, portanto, superior ao erro medido.

No presente estudo, os voluntários realizaram um teste de desempenho contra relógio (*Time Trial*) para completar um trabalho total de 30 KJ no menor tempo possível em estado de acidose prévia induzida pelo exercício. Os valores das variáveis sanguíneas de pH, bicarbonato, lactato e excesso de base também não apresentaram diferença estatística entre as sessões de familiarização e o teste pré-suplementação (Figuras 5 e 6), tendo somente o pH sofrido uma redução significativa comparada ao momento pré-*Time Trial*.

A respeito das variáveis de desempenho no *Time Trial* (Tabela 5), das quais, potência pico absoluta, potência média e índice de fadiga, não foram observados valores estatisticamente diferentes entre as sessões de familiarização e o teste pré-suplementação, com respectivos coeficientes de variação de $5,7\% \pm 5,6\%$, $4,3\% \pm 3,7\%$ e $6,3\% \pm 5,3\%$. Embora aparentemente elevados, as variáveis de potência são também aquelas que podem apresentar maiores modificações em função da intervenção. Em contrapartida, o coeficiente de variação do tempo para completar os 30 kJ é de apenas $3,7\% \pm 2,5\%$ e o índice de correlação intraclasse na comparação das familiarizações 2 e 3 foi ICC= 0,995 para um intervalo de confiança de 95%, sendo possível supor, que variações no desempenho acima deste percentual, podem efetivamente representar a ação dos suplementos.

Driller et al. (2014) investigaram a reprodutibilidade de um protocolo intermitente em bicicleta de duas séries de 4 minutos (*Time Trial*) e encontraram uma variação bem próxima do observado no presente estudo (2,7%) para as

variáveis de desempenho. Bellinger e Minahan (2014) também observaram valores baixos de coeficiente de variação no tempo (1%) e na potência pico (7%) de um protocolo contra relógio de 1 km. Embora o teste de desempenho utilizado no presente estudo se revele uma ferramenta criteriosa e sensível para observar os efeitos dos tratamentos, cabe ressaltar que os voluntários estavam em acidose prévia à execução do teste, de modo que estudos futuros devem confirmar a reprodutibilidade deste teste na ausência da acidose.

Em conjunto, estes resultados sugerem que o protocolo de 4 séries de exercício intermitente em cicloergômetro a 110% da potência máxima é um modelo capaz de induzir e reproduzir efetivamente as condições de acidose tal como os sistemas energéticos, que apresentam respostas consistentes quando o teste é realizado em momentos diferentes, mas sem qualquer intervenção. Além disso, o teste *Time Trial* pode ser considerado suficientemente válido e sensível para detectar mudanças quando há intervenção para manipulação sanguínea do pH, bicarbonato, excesso de base e bicarbonato sanguíneos prévia ao teste.

6.5 Eficácia da suplementação sobre o desempenho (*Time Trial*)

Existe acúmulo suficientemente grande e consistente de evidências de que a acidose contribui de forma decisiva para a queda do desempenho do exercício (ARTIOLI et al., 2007; BISHOP; CLAUDIUS, 2005; BRIEN; MCKENZIE, 1989; PARKHOUSE et al., 1985; SAUNDERS et al., 2012). Sabe-se também, que o aumento das concentrações intramusculares de carnosina a partir da suplementação de beta-alanina, bem como a suplementação de bicarbonato de sódio, estão relacionados com o aumento da capacidade de exercício em atividades caracterizadas pela queda do pH intramuscular (BISHOP et al., 2004; HARRIS et al., 2006; PRICE; MOSS; RANCE, 2003; SALE; SAUNDERS; HARRIS, 2010; STELLINGWERFF et al., 2012).

Quando a beta-alanina e o bicarbonato de sódio foram investigados em conjunto, a literatura, entretanto, apresenta resultados contraditórios, com estudos apontando não haver efeito no desempenho decorrente da coingestão de ambas as substâncias (DE SALES PAINELLI et al., 2013; SAUNDERS et al., 2014), enquanto outros reportam melhoras apenas da beta-alanina (DANAHER et al. 2014; SALE et al., 2011) e para outros o efeito no desempenho resultou somente da suplementação do bicarbonato de sódio (BELLINGER et al., 2012; MERO et al., 2013).

O estudo de Tobias et al. (2013), entretanto, é o único que encontrou melhora de aproximadamente 14% no trabalho total de 4 séries do teste de *Wingate* para os membros superiores tanto para a suplementação isolada como para a combinada de beta-alanina e bicarbonato de sódio. Uma limitação importante no estudo de Tobias e colaboradores, entretanto, é a ausência da reprodutibilidade do teste de desempenho utilizado. Embora os autores tenham observado melhora no desempenho de ambos os suplementos, não há como assegurar que a combinação “destas melhoras” resultou diretamente em um benefício adicional e ainda numa magnitude de 14%. Muito provavelmente, uma parte desconhecida deste percentual pode representar uma margem importante de variabilidade do teste. Cabe destacar, entretanto, que o protocolo do estudo de Tobias et al. (2013) utilizou os membros superiores que seriam mais sensíveis às respostas da indução à alcalose comparado aos membros inferiores, tendo em vista a menor proporção de tecido muscular e a maior composição de fibras mistas e do tipo I nos membros superiores (ROBERTSON et al., 1987), além de terem utilizado o protocolo de suplementação crônica de bicarbonato de sódio.

No presente estudo, entretanto, a suplementação seja ela isolada ou combinada de beta-alanina e bicarbonato de sódio não refletiu em diferenças estatísticas no tempo para completar o *Time Trial* entre os grupos ou entre os períodos de suplementação (Figura 16). Não há razões claras que expliquem a contradição destes resultados, mas há diferenças em determinadas particularidades metodológicas que precisam ser consideradas. Mero et al. (2003) e Bellinger et al. (2012), por exemplo, utilizaram um protocolo de suplementação de beta-alanina de aproximadamente 4,8g/dia durante 4 semanas e não observaram efeito no desempenho do *time trial* após a ingestão isolada de beta-alanina enquanto que Sale et al. (2011) e Danaher et al. (2014) utilizando dosagem um pouco maior (6.4g/dia) identificaram aumento de 14,6% no trabalho total de um teste até a exaustão, após a ingestão isolada de beta-alanina.

Tendo em vista que o aumento da concentração intramuscular de beta-alanina é uma das mais eficientes maneiras de se aumentar a síntese endógena de carnosina e, conseqüentemente, a capacidade tamponante das células musculares (HARRIS et al., 2006), é razoável supor que uma maior diferença de dosagem na suplementação de beta-alanina possa proporcionar melhor capacidade tamponante

intramuscular (HILL et al., 2007). Entretanto, assim como no presente estudo, Saunders et al (2014) utilizaram a mesma dosagem de 6,4g/dia e também não observaram efeitos sobre o desempenho de um exercício intermitente realizado em condição de hipóxia. Embora o presente projeto não contemple procedimentos de biópsia muscular para atestar o aumento da carnosina muscular, já é bem estabelecido que o protocolo de suplementação de 6,4g/dia de beta-alanina é eficaz em aumentar o conteúdo intramuscular de carnosina (HARRIS et al., 2006, SALE, SAUNDERS; HARRIS, 2010; STELLINGWERFF et al., 2012). Há estudos, ainda, que mostram aumentos significativos da carnosina muscular com dosagens inferiores (4,8g/dia) de beta-alanina (BAGUET et al., 2010; DERAIVE et al., 2007). Além disso, a aderência dos voluntários do presente estudo à suplementação de beta-alanina foi verificada como sendo de aproximadamente 97%, o que sugere aumento efetivo da carnosina intramuscular.

Considerando que a síntese endógena de beta-alanina realizada pelos hepatócitos é bastante limitada, um elevado consumo entre os participantes de alimentos contendo dipeptídeos histidínicos, dentre eles a beta-alanina, também poderia afetar os resultados. Embora não haja ainda na literatura os dados sobre o consumo habitual de beta-alanina na dieta dos brasileiros, é possível que se encontre pequenas quantidades de beta-alanina na dieta dos participantes deste estudo, resultante da hidrólise de carnosina e seus derivados metil no consumo de carnes, já que os voluntários não eram vegetarianos. De fato, a média do consumo de beta-alanina dos participantes na dieta habitual até o momento é considerada baixa ($0,5 \pm 0,3$ g), o que não afetaria os resultados até o presente momento. Da mesma forma, o consumo dos demais macronutrientes se distribui uniformemente entre os voluntários (Tabela 3).

Há questionamentos da eficácia da beta-alanina em atletas e pessoas treinadas em atividades de alta intensidade, uma vez que a capacidade tamponante nestes indivíduos seria mais elevada quando comparada a pessoas não treinadas ou treinadas em *endurance* (EDGE; BISHOP; GOODMAN, 2006; PARKHOUSE et al., 1985). Nessa perspectiva, outra limitação deste estudo se refere à dificuldade de estratificação dos voluntários quanto ao perfil específico da modalidade. Mesmo a amostra sendo composta por indivíduos praticantes e familiarizados para uma mesma modalidade, há variações específicas do perfil de treinamento como ocorre

com os ciclistas, por exemplo, em que alguns realizam treinamento de longa duração, enquanto outros são especializados em distâncias curtas e outros, ainda, em subidas. Embora os resultados sobre este tópico sejam controversos (DERAVE et al., 2007; KERN; ROBINSON, 2011), um estudo recente do nosso grupo observou que a suplementação de beta-alanina proporcionou melhora similar (aproximadamente 3%) no trabalho total em exercício de alta intensidade tanto em atletas de ciclismo altamente treinados como em indivíduos não treinados (DE SALES PAINELLI et al., 2014).

A eficácia da suplementação de beta-alanina é altamente reportada por estudos que utilizaram protocolos de exercícios de alta intensidade realizados até a exaustão (DANAHER et al., 2014; HILL et al., 2007; SALE et al., 2011) em oposição à finalização do exercício no momento do alcance de uma determinada meta. Exercícios até a exaustão normalmente tem duração entre 60-240 segundos resultando em grande produção de H^+ e favorecendo as evidências quanto ao papel tamponante da carnosina. No presente estudo, embora os voluntários já apresentassem valores reduzidos de pH antes de iniciar o *Time Trial*, o tempo médio obtido no teste foi de 72 segundos. É razoável supor, entretanto, que o tempo do teste *Time Trial* do presente estudo tenha sido relativamente curto para se observar o efeito da carnosina no aumento da capacidade tamponante intramuscular, o que parece corroborar o estudo de Hobson et al. (2012), que sugerem que os efeitos da suplementação de beta-alanina são dependentes de exercícios de alta intensidade com duração superior a 60 segundos.

A eficácia da suplementação de bicarbonato de sódio é bem consistente na literatura (CARR; HOPKINS; GORE, 2011). Entretanto, alguns estudos não mostram efeitos sobre a capacidade de exercício no ciclismo utilizando protocolos até a exaustão à 110% (ROBERGS; GHASVAND; PARKER, 2004; SALE et al. 2011) ou a 120% da potência aeróbia máxima (SIEGLER et al., 2007) apesar do evidente estímulo para o aumento da produção de H^+ nas células musculares ativas. Embora a diferença na quantidade de bicarbonato de sódio ingerida possa influenciar na magnitude do aumento do bicarbonato extracelular (STANNARD et al., 2016), a dosagem de 0,3g/kg de peso corporal administrada de forma aguda tem sido amplamente utilizada e mostrando resultados positivos ao desempenho. Entretanto, Saunders et al. (2014) demonstraram elevada variação interindividual da resposta

ergogênica bem como ressaltam o impacto que os efeitos colaterais possam ter sobre o desempenho.

A inferência baseada em magnitude representa uma alternativa interessante de tratamento e interpretação dos resultados baseada na importância prática dos achados, estabelecendo que cada manipulação experimental possa ter efeitos negativos, positivos ou triviais (BATTERHAM; HOPKINS, 2006). No presente estudo, a análise da inferência baseada em magnitude mostra que a beta-alanina quando suplementada juntamente com o bicarbonato de sódio (grupo, BA + BIC) é o tratamento que apresenta maior chance de ser positivo (76%) quando comparado ao teste pré-suplementação. As chances dos suplementos beta-alanina (grupo, BA) e bicarbonato (grupo, BIC) bem como do placebo (grupo, PLA) apresentarem efeito positivo foram de 24%, 40% e 12% respectivamente. Os resultados desta análise para o suplemento beta-alanina (grupo, BA), entretanto, parecem estar influenciados por um único *outlier*, que quando excluído da análise, eleva a chance da beta-alanina ser positiva para 69%.

Bellinger et al. (2012), ao utilizarem a inferência baseada em magnitude, também observaram que, apesar de mínimo, havia efeito aditivo na combinação de beta-alanina e bicarbonato de sódio durante uma série *all out* de 4 minutos no ciclismo. Hobson et al. (2013), também utilizando a estatística baseada em magnitude, observaram que a suplementação combinada de beta-alanina e bicarbonato de sódio resultou numa pequena, porém provável melhora ($1,1 \pm 5,6$ s) no tempo para completar 2000m no remo. Na análise da variação absoluta no *Time Trial* (Figura 17), no presente estudo, observa-se redução nos tempos após o período de suplementação nos grupos que receberam alguma intervenção sendo: BA 0,3s (0,5%); BIC 1,3s (1,4%); BA + BIC 2,7s (4%) e PLA 0,1 (0%). Embora a magnitude destas variações não seja estatisticamente significativa (com intervalo de confiança de 95%) pode-se supor, contudo, que em termos de desempenho em modalidades esportivas, uma redução de 2,7 segundos no *time-trial* poderia ser importante.

Nessa perspectiva, as respostas sanguíneas correspondem metabolicamente aos achados e sinalizam maior esforço no teste de desempenho nos grupos suplementados com bicarbonato de sódio. Os voluntários dos grupos BIC e BA + BIC teriam realizado maior esforço no teste pós-suplementação tendo em vista maior

valor de lactato no momento pós-*Time-Trial* comparado ao mesmo momento antes da suplementação. Os valores de pH, bicarbonato e excesso de base reduziram no momento pós-*Time Trial*, porém, estavam significativamente maiores comparado ao período pré-suplementação demonstrando uma regulação mais eficiente da acidose nos grupos BIC e BA + BIC.

Análises individuais do percentual de melhora no tempo to *Time Trial* mostraram que o número elevado de voluntários nos grupos BA e BA + BIC (8 indivíduos) melhoraram acima do percentual de variação do teste (3,6%). Por sua vez, no grupo BA + BIC foram detectados 9 indivíduos enquanto que no grupo PLA apenas 5 indivíduos registraram melhora acima do coeficiente de variação do teste. De modo semelhante, de Salles Painelli et al. (2013) também argumentam que há 78% de possibilidade da suplementação combinada de beta-alanina e bicarbonato de sódio ser positiva na melhora do tempo para percorrer os 200 m na natação e que individualmente, 8 de 9 atletas melhoraram quando receberam beta-alanina.

6.6 Efeitos ergolíticos da suplementação

O único resultado adverso relatado da ingestão de beta-alanina são os sintomas de parestesia, os quais são dose-dependentes e desaparecem cerca de 1 hora após a ingestão (HARRIS et al., 2006). No presente estudo, apenas 5 voluntários relataram sintomas de parestesia, que teriam desaparecido cerca de 15 minutos após a ingestão.

O uso de beta-alanina por até 10 semanas é seguro se as doses únicas máximas forem respeitadas. Segundo Harris et al. (2006), a beta-alanina e a taurina compartilham o mesmo receptor que faz o transporte para dentro dos tecidos. Por esse motivo, o aumento da concentração plasmática de beta-alanina poderia, pelo menos teoricamente, reduzir pela competição a captação de taurina e, por consequência, o conteúdo de taurina dentro de diversos tecidos. Porém, os estudos de Harris et al. (2006) e Hill et al. (2007) não observaram em humanos nenhuma redução na concentração intramuscular de taurina em decorrência da suplementação de beta-alanina.

Embora não existam muitas dúvidas acerca da segurança da suplementação da beta-alanina, as evidências indicando sua segurança ainda são, por outro lado, escassas. No presente estudo investigamos a segurança de 4 semanas da suplementação de beta-alanina nos marcadores de função renal, muscular e

hepática (Tabelas 15 e 16), e os resultados não mostram qualquer alteração nos padrões clínicos de repouso após a suplementação. Utilizando marcadores semelhantes, Saunders et al. (2015) também não encontraram efeitos adversos da suplementação crônica e contínua por 6 meses de beta-alanina.

No presente estudo, embora a dose administrada de bicarbonato (0,3 g/kg de massa corporal) seja segura e favorável à melhora do desempenho (REQUENA et al., 2005), 11 dos 77 indivíduos relataram algum tipo de desconforto gastrointestinal que, segundo os voluntários, estavam diretamente relacionados à ingestão do suplemento. Entretanto, somente 9 indivíduos (sendo 5 no grupo BIC e 4 no grupo BA + BIC) ingeriram, de fato, o bicarbonato de sódio. Os principais sintomas relacionados foram considerados leves sendo eles; eructação, enjoo, plenitude gástrica e desconforto intestinal com média de $5,1 \pm 2,0$ pontos na escala de desconforto gastrointestinal (PRICE; MOSS; RANCE, 2003). Análises individuais apresentados na Figura 19 demonstram uma variabilidade comum no desempenho para todos os grupos e que não se relacionada diretamente aos efeitos colaterais do bicarbonato de sódio.

7 CONCLUSÃO

A suplementação de bicarbonato de sódio, independentemente da suplementação combinada ou isolada de beta-alanina melhorou as variáveis de controle do equilíbrio ácido-base sanguíneo resultando na maior participação da via glicolítica na primeira série do exercício intermitente.

A ingestão de beta-alanina independentemente da combinação ou não com o bicarbonato de sódio não conferiu benefícios adicionais ao desempenho apesar da redução no tempo de 2,7s (4%) no tempo para completar o *Time Trial* e da inferência baseada em magnitude sugerir uma probabilidade de 76% desta diferença ter efeito positivo.

O protocolo de exercício intermitente composto por 4 séries de 1 minuto com 1 minuto de intervalo a 110% da potência aeróbia máxima foi eficiente na indução da acidose, confirmada pela reprodutibilidade os dados sanguíneos de lactato, pH e excesso de base, tal como os sistemas energéticos, cujo perfil metabólico é composto em sua maior parte do sistema oxidativo (45 - 55%), seguido do sistema ATP-CP (35 - 40%) e do glicolítico (8 - 15%), refletindo, portanto, a consistência dos dados quando as avaliações foram realizadas em múltiplas ocasiões sobre condições idênticas.

O teste de desempenho *Time Trial* pode ser considerado suficientemente válido e sensível para detectar mudanças quando há intervenção para manipulação sanguínea do pH, bicarbonato, excesso de base e bicarbonato sanguíneos prévia ao teste.

A suplementação de 6,4g de beta-alanina durante 4 semanas resultou apenas em leves, pontuais e transitórios sintomas de parestesia em alguns poucos participantes, mas não ocasionou qualquer alteração nos padrões clínicos sanguíneos de repouso nos marcadores de função renal, muscular e hepática e pode ser considerada segura, assim como a ingestão combinada de 0,3g/kg de massa corporal de bicarbonato de sódio administrada 60 minutos antes do exercício, cujos mínimos e leves efeitos gastrointestinais relatados, não convergiram em efeitos ergolíticos ao desempenho.

REFERÊNCIAS

- 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.
- ADLER, S.; ROY, A.; RELMAN, A.S. Intracellular acid-base regulation. The response of muscle cell to changes in CO₂ tension or extracellular bicarbonate concentration. **Journal of Clinical Investigation**, v.44, n.1, p.8-20, 1965.
- ARTIOLI, G.G. et al. A ingestão de bicarbonato de sódio pode contribuir para o desempenho em lutas de judô? **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v.12, n.6, p.371-375, 2006.
- ARTIOLI, G.G. et al. 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. et al. 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.
- ARTIOLI, G.G. et al. Determining the contribution of the energy systems during exercise. **Journal of Visualized Experiments**, v.20, n.61, p.3413, 2012.
- ASATOOR, A.M. et al. Intestinal absorption of carnosine and its constituent amino acids in man, **Gut**, v.11, n.3, p.250-254, 1970.
- ATKINSON, G.; NEVILL, A.M. Statistical methods for assessing measurement error (reliability) in variables relevant to sports medicine, **Sports Medicine**, v.26, n.4, p.217-238, 1998.
- BAGUET, A. et al. Important role of muscle carnosine in rowing performance. **Journal of Applied Physiology**, v.109, n.4, p.1096-1101, 2010.
- BALSON, P, D. et al. Maximal-intensity intermittent exercise: effect of recovery duration. **International Journal of Sports Medicine**, v.13, n.7, p.528-533, 1992.
- BANGSBO, J. et al. Lactate and H⁺ effluxes from human skeletal muscles during intense, dynamic exercise. **Journal of Physiology**, n.462, p.115-133, 1993.
- BANGSBO, J. et al. Lactate and H⁺ uptake in inactive muscles during intense exercise in man. **Journal of Physiology**, v.1, n.488, p.219-229, 1995.
- BATTERHAM, A. M.; HOPKINS, W. G. Making meaningful inferences about magnitudes. **International Journal of Sports Physiology and Performance**, v.1, n.1, p.50-57, 2006.
- BAUER, K; SCHULZ, M. Biosynthesis of carnosine and related peptides by skeletal muscle cells in primary culture. **European Journal of Biochemistry**, v.15, n.219, p.43-47, 1994.
- BELLINGER, P.M. et al. Effect of combined β -alanine and sodium bicarbonate supplementation on cycling performance. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v.44, n.8, p.1545-1551, 2012.

- BELLINGER, P.M.; MINAHAN, C. Reproducibility of a laboratory based 1-km wattbike cycling time trial in competitive cyclists. **Journal of Science and Cycling**, v.3, n.3, p.23-28, 2014.
- BENADÉ, A.J.; HEISLER, N. Comparison of efflux rates of hydrogen and lactate ions from isolated muscles in vitro. **Respiration Physiology**, v.32, n.3, p.369-380, 1978.
- BENEKE, R. et al. How anaerobic is the Wingate Anaerobic Test for humans? **European Journal of Applied Physiology**, v.87, n.4-5, p.388-392, 2002.
- BERGSTRÖM, J.; GUARNIERI, G.; HULTMAN, E. Carbohydrate metabolism and electrolyte changes in human muscle tissue during heavy work. **Journal of Applied Physiology**, v.30, n.1, p.122-125, 1971.
- BERTUZZI, R.C. et al. Energy system contributions in indoor rock climbing. **European Journal of Applied Physiology**, v.101, n.3, p.293-300, 2007.
- BERTUZZI R.C. et al. Predicting MAOD using only a supramaximal exhaustive test. **International Journal of Sports Medicine**, v.31, n.7, p.477-481, 2010.
- BISHOP, D. et al. Induced metabolic alkalosis affects muscle metabolism and repeated-sprint ability. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v.36, n.5, p.807-813, 2004.
- BISHOP, D.; CLAUDIUS, B. Effects of induced metabolic alkalosis on prolonged intermittent-sprint performance. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v.37, n.5, p.759-767, 2005.
- BOGDANIS, G.C. et al. Contribution of phosphocreatine and aerobic metabolism to energy supply during repeated sprint exercise. **Journal of Applied Physiology**, v.80, n.3 p.876-884, 1996.
- BOOBIS, L.H., WILLIAMS, C.; WOOTTON, S.A. Human muscle metabolism during brief maximal exercise. **Journal of Physiology**, v.338, n.3, p.21-22P, 1982.
- BOUISSOU, P. et al. Metabolic and blood catecholamine responses to exercise during alkalosis. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v.20, n.3, p.228-232, 1988.
- BRIEN, D.M.; MCKENZIE, D.C. The effect 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.
- BROCH-LIPS, M. et al. Effects of extracellular HCO₃⁻ on fatigue, pHi, and K⁺ efflux in rat skeletal muscles. **Journal of Applied Physiology**, v.103, n.2, p.494-503, 2007.
- CAIRNS, S.P. Lactic acid and exercise performance: culprit or friend? **Sports Medicine**, v.36, n.4, p.279-291, 2006.
- CAMPOS, F.A. et al. Energy demands in taekwondo athletes during combat simulation. **European Journal of Applied Physiology**, v.112, n.3, p.1221-1228, 2012.

CARR, A.J.; HOPKINS, W.G.; GORE, C.J. Effects of acute alkalosis and acidosis on performance: a meta-analysis. **Sports Medicine**, v.41, n.10, p.801-814, 2011.

CASABURI, R. et al. et al. Ventilatory and gas exchange responses to cycling with sinusoidally varying pedal rate. **Journal of Applied Physiology: Respiratory, Environmental and Exercise Physiology**, v.44, n.1, p.97-103, 1978.

CHASIOTIS, D.; SAHLIN, K.; HULTMAN, E. Regulation of glycogenolysis in human muscle at rest and during exercise. **Journal of Applied Physiology: Respiratory, Environmental and Exercise Physiology**, v.53, n.3, p.708-715, 1982.

COGGAN, A.R.; COSTILL, D.L. Biological and technological variability of three anaerobic ergometer tests. **International Journal of Sports Medicine**, v.5, n.3, p.142-145, 1984.

COSTILL, D.L. et al. Acid-base balance during repeated bouts of exercise: influence of HCO₃. **International Journal of Sports Medicine**, v.5, n.5, p.228-231, 1984.

DANAHER, J. et al. The effect of beta-alanine and NaHCO₃ co-ingestion on buffering capacity and exercise performance with high-intensity exercise in healthy males. **European Journal of Applied Physiology**, v.114, n.8, p.1715-1724, 2014.

DAVEY, C.L. The significance of carnosine and anserine in striated skeletal muscle. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v.89, p.303-308, 1960.

DAWSON, M.J.; GADIAN, D.G.; WILKIE, D.R. Muscular fatigue investigated by phosphorus nuclear magnetic resonance. **Nature**, v.31, n.274, p.861-866, 1978.

DE SALLES PAINELLI, V. et al. The ergogenic effect of beta alanine combined with sodium bicarbonate on high-intensity swimming performance. **Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism**, v.38, n.5, p.525-532, 2013.

DE SALLES PAINELLI, V. et al. Influence of training status on high-intensity intermittent performance in response to β-alanine supplementation. **Amino Acids**, v.46, n.5, p.1207-1215, 2014.

DERAVE, W. et al. 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.

DI PRAMPERO, P.E.; FERRETTI, G. The energetics of anaerobic muscle metabolism: a reappraisal of older and recent concepts. **Respiration Physiology**, v.118, n.2-3, p.103-115, 1999.

DOUROUDOS, I.I. et al. Dose-related effects of prolonged NaHCO₃ ingestion during high-intensity exercise. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v.38, n.10, p.1746-1753, 2006.

DRILLER, M.W. et al. Reliability of a 2-bout exercise test on a wattbike cycle ergometer. **International Journal of Sports Physiology and Performance**, v.9, n.12, p.340-345, 2014.

- DUCKER, K.J.; DAWSON, B.; WALLMAN, K.E. Effect of Beta alanine and sodium bicarbonate supplementation on repeated-sprint performance. **Journal of Strength and Conditioning Research**, v.27, n.12, p.3450-3460, 2013.
- DUFFIELD, R. et al. Accuracy and reliability of a Cosmed K4b2 portable gas analysis system. **Journal of Science and Medicine in Sport**, v.7, n.1, p.11-22, 2004.
- DUFFIELD, R.; DAWSON, B.; GOODMAN, C. Energy system contribution to 400-metre and 800-metre track running. **Journal of Sports Sciences**, v.23, n.3, p.299-307, 2005.
- EDGE, J.; BISHOP, D.; GOODMAN, C. Effects of chronic NaHCO₃ 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.
- ESSÉN, B.; HAGENFELDT, L.; KAIJSER, L. Utilisation of blood-borne and intramuscular substrates during continuous and intermittent exercise in man. **Journal of Physiology**, v.265, n.2, p.489-506, 1977.
- FABIATO, A.; FABIATO, F. Effects of pH on the myofilaments and the sarcoplasmic reticulum of skinned cells from cardiac and skeletal muscles. **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.
- FRANCHINI, E. et al. Energy system contributions to the special judo fitness test. **International Journal of Sports Physiology and Performance**, v.6, n.3, p.334-343, 2011.
- GAITANOS, G.C. et al. Repeated bouts of sprint running after induced alkalosis. **Journal Sports Sciences**, v.9, n.4, p.355-370, 1991.
- GAITANOS, G.C. et al. Human muscle metabolism during intermittent maximal exercise. **Journal of Applied Physiology**, v.75, n.2, p.712-719, 1993.
- GAO, J.P. et al. Sodium bicarbonate ingestion improves performance in interval swimming. **European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology**, v.58, n.1-2, p.171-174, 1988.
- GASTIN, P.B. Quantification of anaerobic capacity. **Scandinavian Journal of Medicine and Science in Sports**, v.4, p.91-112, 1994.
- GASTIN, P.B. Energy system interaction and relative contribution during maximal exercise. **Sports Medicine**, v.31, n.10, p.725-741, 2001.
- GLADDEN, L.B. Lactate metabolism: a new paradigm for the third millennium. **Journal of Physiology**, v.558, n.1, p.5-30, 2004.
- GLEDHILL, N. Bicarbonate ingestion and anaerobic performance. **Sports Medicine**, v.1, n.3, p.177-180, 1984.

GRAHAM, K.; MCLELLAN, T. Variability of time to exhaustion and oxygen deficit in supramaximal exercise. **Australian Journal of Science and Medicine in Sport**, v.21, p.11–14, 1989.

GRANIER, P.L. et al. Effect of NaHCO₃ on lactate kinetics in forearm muscles during leg exercise in man. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v.28, n.6, p.692-697, 1996.

HARRIS, R.C.; HULTMAN, E.; NORDESJO, L.O. Glycogen, glycolytic intermediates and high energy phosphates determined in biopsy samples of m.quadriceps femoris of man at rest. Methods and variance of values. **Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation**, v.33, n.2, p.109-120, 1974.

HARRIS, R.C. et al. The effect of circulatory occlusion of isometric exercise capacity and energy metabolism of the quadriceps muscle in man. **Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation**, v.35, n.1, p.87-95, 1975.

HARRIS, R.C. et al. The time course of phosphorylcreatine resynthesis during recovery of the quadriceps femoris muscle in man. **Pflugers Archiv**, v.367, n.2, 137-142, 1976.

HARRIS, R.C. et al. Muscle buffering capacity and dipeptide content in the thoroughbred horse, greyhound dog and man. **Comparative Biochemistry and Physiology. A, Comparative Physiology**, v.97, n.2, p.249-251, 1990.

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**, v.30, n.3, p.279-289, 2006.

HERMANSEN, L.; OSNES, J.B. Blood and muscle pH after maximal exercise in man. **Journal of Applied Physiology**, v.32, n.3, p.304-308, 1972.

HERMANSEN, L.; MEDBO, J.I. The relative significance of aerobic and anaerobic processes during maximal exercise of short duration. **Medicine and Sport Science**, v.17, p.56-67, 1984.

HICKEY, M. S. et al. Day to day variation in time trial cycling performance. **International Journal of Sports Medicine**, v.13, n.6, p.467-470, 1992.

HIGGINS, M.F.; JAMES, R.S.; PRICE, M.J. The effects of sodium bicarbonate (NaHCO₃) ingestion on high intensity cycling capacity. **Journal of Sports Sciences**, v.31, n.9, p.972-981, 2013.

HILL, A.V.; LUPTON, H. Muscular exercise, lactic acid and the supply and utilization of oxygen. **Quarterly Journal of Medicine**, v.16, p.135-171, 1923.

HILL, C. A. et al. 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.

HIRCHE, H. et al. Lactic acid permeation in working gastrocnemius of dogs during metabolic alkalosis and acidosis. **Pflügers Archiv**, v.356, n.3, p.209-222, 1975.

HIRVONEN, J. et al. Breakdown of high-energy phosphate compounds and lactate accumulation during short supramaximal exercise. **European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology**, v.56, n.3, p.253-259, 1987.

HOBSON, R.M. et al. Effects of b-alanine supplementation on exercise performance: a meta-analysis. **Amino Acids**, v.43, n.1, p.25–37, 2012.

HOBSON, R.M. et al. Effect of beta-alanine, with and without sodium bicarbonate, on 2000-m rowing performance. **International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism**, v.23, n.5, p.480-487, 2013.

HOFFMAN, J. et al. Effect of creatine and beta-alanine supplementation on performance and endocrine responses in strength/power athletes. **International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism**, v.16, n.4, p.430-446, 2006.

HOLLIDGE-HORVAT, M.G. et al. Effect of induced metabolic alkalosis on human skeletal muscle metabolism during exercise. **American Journal of Physiology, Endocrinology, and Metabolism**, v.278, n.2, p.E316–329, 2000.

HOPKINS, W.G.; HAWLEY, J.A; BURKE, L.M. Design and analysis of research on sport performance enhancement. **Medicine Science and Sports Exercise**, v.31, n.3, p.472-485, 1999.

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.

HORSWILL, C.A. et al. Influence of sodium bicarbonate on sprint performance: relationship to dosage. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v.20, n.6, p.566-569, 1988.

HORSWILL, C.A. Effects of bicarbonate, citrate, and phosphate loading on performance. **International Journal of Sport Nutrition**, v.5, Suppl, p.111-119, 1995.

HOWLEY, E.T.; BASSETT, D.R.; WELCH, H.G. Criteria for maximal oxygen uptake: review and commentary. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v.27, n.9, p.1292-1301, 1995.

HULTMAN, E.; BERGSTRÖM, J.; McLENNAN-ANDERSON, N. Breakdown and resynthesis of phosphorylcreatine and adenosine triphosphate in connection with muscular work in man. **Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation**, v.19, n.1, p.56-66, 1967.

HULTMAN, E.; SJÖHOLM, H. Energy metabolism and contraction force of human skeletal muscle in situ during electrical stimulation. **Journal of Physiology**, v.345, p.525-532, 1983.

HULTMAN, E. Carbohydrate metabolism during hard exercise and in the recovery period after exercise. **Acta Physiologica Scandinavica. Supplementum**, v.556, p.75-82, 1986.

HULTMAN, E.; SPRIET, L.L. Skeletal muscle metabolism, contraction force and glycogen utilisation during prolonged electrical stimulation in humans. **Journal of Physiology**, v.374, p.493-501, 1986.

- HUNTER, G.R.; SEELHORST, D.; SNYDER, S. Comparison of metabolic and heart rate responses to super slow vs. traditional resistance training. **Journal of Strength and Conditioning Research**, v.17, n.1, p.76-81, 2003.
- INBAR, O. et al. The effect of alkaline treatment on short-term maximal exercise. **Journal of Sports Sciences**, v.12, p.95–104, 1983.
- JACOBS, I. et al. Changes in muscle metabolites in females with 30-s exhaustive exercise. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v.14, n.6, p.457-460, 1982.
- JACOBS, I., et al. Lactate in human skeletal muscle after 10 and 30 s of supramaximal exercise. **Journal of Applied Physiology: Respiratory, Environmental and Exercise Physiology**, v.55, n.2, p.365-367, 1983.
- JEUKENDRUP, A.E. et al. A new validated endurance performance test. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v.28, n.2, p.266-270, 1996.
- JONES, N.L. et al. Muscle performance and metabolism in maximal isokinetic cycling at slow and fast speeds. **Journal of Applied Physiology**, v.59, n.1, p.132-136, 1985.
- JORFELDT, L. Metabolism of L(plus)-lactate in human skeletal muscle during exercise. **Acta Physiologica Scandinavica. Supplementum**, v.338, p.1-67, 1970.
- JORFELDT, L.; JUHLIN-DANNFELT, A.; KARLSSON, J. Lactate release in relation to tissue lactate in human skeletal muscle during exercise. **Journal of Applied Physiology: Respiratory, Environmental and Exercise Physiology**, v.44, n.3, p.350-352, 1978.
- JUEL, C. Current aspects of lactate exchange: lactate/H⁺ transport in human skeletal muscle. **European Journal of Applied Physiology**, v. 86, n. 1, p. 12-6, 2001.
- KATZ, A. et al. Maximal exercise tolerance after induced alkalosis. **International Journal of Sports Medicine**, v.5, n.2, p.107-110, 1984.
- KENDRICK, I.P. et al. 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.
- KERN, B.D.; ROBINSON, T.L. Effects of β -alanine supplementation on performance and body composition in collegiate wrestlers and football players. **Journal of Strength and Conditioning Research**, v.25, n.7, p.1804–1815, 2011.
- KINDERMANN, W.; KEUL, J.; HUBER, G. Physical exercise after induced alkalosis (bicarbonate or tris-buffer). **European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology**, v.37, n.3, p.197-204, 1977.
- LANCHA JUNIOR, A.H. et al. Nutritional Strategies to Modulate Intracellular and Extracellular Buffering Capacity During High-Intensity Exercise. **Sports Medicine**, v.45, Suppl 1, p.S71-81, 2015.
- LAVENDER, G.; BIRD, S.R. Effect of sodium bicarbonate ingestion upon repeated sprints. **British Journal of Sports Medicine**, v.23, n.1, p.41-45, 1989.

LEE, P. et al. The role of creatine phosphate during supramaximal exercise (Abstract). **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v.19, p.S34, 1987.

LOPES-SILVA, J.P. et al. Caffeine Ingestion Increases Estimated Glycolytic Metabolism during Taekwondo Combat Simulation but Does Not Improve Performance or Parasympathetic Reactivation. **PLoS One**, v.10, n.11 p.1-16, 2015.
Errata em: **PLoS One**, v.10 n.12:e01448492015.

MAINWOOD, G.W.; WORSLEY-BROWN, P. The effects of extracellular pH and buffer concentration on the efflux of lactate from frog sartorius muscle. **Journal of Physiology**, v.250, n.1, p.1-22, 1975.

MAINWOOD, G.W.; CECCHETTO, D. The effect of bicarbonate concentration on fatigue and recovery in isolated rat diaphragm muscle. **Canadian Journal of Physiology and Pharmacology**, v.58, n.6, p.624-632, 1980.

MARGARIA, R.; EDWARDS, R.H.T.; DILL, D.B. The possible mechanisms of contracting and paying the oxygen debt and the role of lactic acid in muscular contraction. **American Journal of Physiology**, v.106, p.689-715, 1933.

MARGARIA, R. et al. Energy utilisation in intermittent exercise of supraniaximal intensity. **Journal of Applied Physiology**, v.26, n.6, p.752-756, 1969.

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. **Journal of Biological Chemistry**, v.262, n.15, p.7232-7237, 1987.

MAZZETTI, S. et al. Effect of explosive versus slow contractions and exercise intensity on energy expenditure. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v.39, n.8., p.1291-1301, 2007.

MCCARTNEY, N. et al. Muscle power and metabolism in maximal intermittent exercise. **Journal of Applied Physiology**, v.60, n.4, p.1164-1169, 1986.

MCCREARY, C.R. et al. Kinetics of pulmonary oxygen uptake and muscle phosphates during moderate-intensity calf exercise. **Journal of Applied Physiology**, v.81, n.3, p.1331-1338, 1996.

MCLELLAN, T.M.; CHEUNG, S.S.; JACOBS, I. Variability of time to exhaustion during submaximal exercise. **Canadian Journal of Applied Physiology**, v.20, n.1, p.39-51, 1995.

MCNAUGHTON, L.R. Bicarbonate ingestion: effects of dosage on 60 s cycle ergometry. **Journal of Sports Sciences**, v.10, n.5, p.415-423, 1992.

MCNAUGHTON, L. et al. Effects of chronic bicarbonate ingestion on the performance of high-intensity work. **European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology**, v.80, n.4, p.333-336, 1999.

MCNAUGHTON, L.; THOMPSON, D. Acute versus chronic sodium bicarbonate ingestion and anaerobic work and power output. **Journal of Sports Medicine and Physical Fitness** v.41, n.4, p.456-462, 2001.

MEDBO, J.I. et al. Anaerobic capacity determined by maximal accumulated O₂ deficit. **Journal of Applied Physiology**, v.64, n.1, p.50-60, 1988.

MELLO, F.D. et al. Energy systems contributions in 2,000 m race simulation: a comparison among rowing ergometers and water. **European Journal of Applied Physiology**, v.107, n.5, p.615-619, 2009.

MERO, A.A. et al. Effect of sodium bicarbonate and beta-alanine supplementation on maximal sprint swimming. **Journal of the International Society of Sports Nutrition**, v.10, n.52, 2013.

MORRIS, D.M. et al. Effects of lactate consumption on blood bicarbonate levels and performance during high-intensity exercise. **International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism**, v.21, n.4, p.311-317, 2011.

NEVILL, M.E. et al. Effect of training on muscle metabolism during treadmill sprinting. **Journal of Applied Physiology**, v.67, n.6, p.2376-2382, 1989.

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.

OGAWA, T. et al. Metabolic response during intermittent graded sprint running in moderate hypobaric hypoxia in competitive middle-distance runners. **European Journal of Applied Physiology**, v.99, n.1, p.39-46, 2007.

PARKHOUSE, W.S.; MCKENZIE, D.C. Possible contribution of skeletal muscle buffers to enhanced anaerobic performance: a brief review. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v.16, n.4, p.328-338, 1984.

PARKHOUSE, W.S. et al. Buffering capacity of deproteinized human vastus lateralis muscle. **Journal of Applied Physiology**, v.58, n.1, p.14-17, 1985.

PARRY-BILLINGS, M.; MACLAREN, D.P. The effect of sodium bicarbonate and sodium citrate ingestion on anaerobic power during intermittent exercise. **European Journal of Applied Physiology**, v.55, n.5, p.524-529, 1986.

POORTMANS, J.R.; BOSSCHE, J.; LECLERCQ, R. Lactate uptake by inactive forearm during progressive leg exercise. **Journal of Applied Physiology: Respiratory, Environmental, and Exercise Physiology**, v.45, n.6, p.835-839, 1978.

PORTINGTON, K.J. et al. Effect of induced alkalosis on exhaustive leg press performance. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v.30, n.4, p.523-528, 1998.

POTTEIGER, J.A. et al. The effects of buffer ingestion on metabolic factors related to distance running performance. **European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology**, v.72, n.4, p.365-371, 1996.

PRICE, M. J.; MOSS, P.; RANCE, S. Effects of sodium bicarbonate ingestion on prolonged intermittent exercise. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v.35, n.8, p.1303-1308, 2003.

PRUSCINO, C.L. et al. Effects of sodium bicarbonate, caffeine and their combination on repeated 200-m freestyle performance. **International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism**, v.18, n.2, p.116-130, 2008.

REQUENA, B. et al., Sodium bicarbonate and sodium citrate: ergogenic aids? **Journal of Strength and Conditioning Research**, v.19, n.1, p.213-224, 2005.

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.

ROBERTSON, R.J. et al. Effect of induced alkalosis on physical work capacity during arm and leg exercise. **Ergonomics**, v.30, n.1, p.19–31, 1987.

ROBIN, E.D. Of men and mitochondria: intracellular and subcellular acid-base relations. **New England Journal of Medicine**, v.265, p.780-785, 1961.

SAHLIN, K.; HARRIS, R.C.; HULIMAN, E. Creatine kinase equilibrium and lactate content compared with muscle pH in tissue samples obtained after isometric exercise. **Biochemical Journal**, v.152, n.2, p.173-180, 1975.

SAHLIN, K. et al. Lactate content and pH in muscle samples obtained after dynamic exercise. **Pflugers Archiv**, v.367, n.2, p.143-149, 1976.

SAHLIN, K.; HARRIS, R.C.; HULTMAN, E. Resynthesis of creatine phosphate in human muscle after exercise in relation to intramuscular pH and availability of oxygen. **Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation**, v.39, n.6, p.551-558, 1979.

SAHLIN, K.; REN, J.M. Relationship of contraction capacity to metabolic changes during recovery from fatiguing contraction. **Journal of Applied Physiology**, v.67, n.2, p.648-654, 1989.

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.321–333, 2010.

SALE, C et al. 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. et al. β -alanine supplementation improves YoYo intermittent recovery test performance. **Journal of the International Society of Sports Nutrition**, v.9, n.1. p.39, 2012.

SAUNDERS, B. et al. Reliability of a high-intensity cycling capacity test. **Journal of Science and Medicine in Sport**, v.16, n.3, p.286-289, 2013.

SAUNDERS, B. et al. Effect of sodium bicarbonate and Beta-alanine on repeated sprints during intermittent exercise performed in hypoxia. **International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism**, v.24, n.2, p.196-205, 2014.

SAUNDERS, B. et al. Twenty-four weeks of beta-alanine supplementation does not affect clinical markers of health: preliminary findings. **Anais do 20th Annual**

Congress the European College of Sport Science ECSS, 2015, Malmö, Sweden: European Congress of Sport Science, 2015.

SCOTT, C.B. Contribution of blood lactate to the energy expenditure of weight training. **Journal of Strength and Conditioning Research**, v.20, n.2, p.404-411, 2006.

SERRESSE, O. et al. Estimation of the contribution of the various energy systems during maximal work of short duration. **International Journal of Sports Medicine**, v.9, n.6, p.456-460, 1988.

SIEGLER, J.C. et al. Pre-exercise alkalosis and acid–base recovery. **International Journal of Sports Medicine**, v.29, n.7, p.545–551, 2007.

SKULACHEV, V.P. Membrane-linked energy buffering as the biological function of Na⁺/K⁺ gradient. **FEBS Letters**, v.87, n.2, p.171-179, 1978.

SMITH, A.E. et al. Effects of β -alanine supplementation and high-intensity interval training on endurance performance and body composition in men; a double-blind trial. **Journal of the International Society of Sports Nutrition**, v.11, n.5, 2009.

SPENCER, M.R.; GASTIN, P.B. Energy system contribution during 200- to 1500-m running in highly trained athletes. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v.33, n.1, p.157-162, 2001.

SPRIET, L.L. Anaerobic metabolism during high-intensity exercise. In: Hargreaves M., ed. Exercise metabolism. Champaign: Humans Kinetics, 1995. p.1-39.

STANNARD, R.L, et al. Dose-Response of Sodium Bicarbonate Ingestion Highlights Individuality in Time Course of Blood Analyte Responses. **International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism**, v. 20, 2016. In press.

STELLINGWERFF, T. et al. 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. et al. 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.

SUTTON, J.R.; JONES, N.L.; TOEWS, C.J. Effect of pH on muscle glycolysis during exercise. **Clinical Science**, v.61, n.3, p.331-338, 1981.

TANOKURA, M.; TASUMI, M.; MIYAZAWA, T. ¹H nuclear magnetic resonance studies of histidine-containing di- and tripeptides. Estimation of the effects of charged groups on the pK_a value of the imidazole ring. **Biopolymers**, v.15, n.2, p.393–401, 1976.

TOBIAS, G. et al. Additive effects of beta-alanine and sodium bicarbonate on upper-body intermittent performance. **Amino Acids**, v.45, n.2, p.309-317, 2013.

VAN MONTFOORT, M.C.E. et al. Effects of ingestion of bicarbonate, citrate, lactate and chloride on sprint running. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v.36, n.7, p.1239-1243, 2004.

VAN THIENEN, R. et al. Beta-alanine improves sprint performance in endurance cycling. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v.41, n.4, p.898-903, 2009.

VANDEWALLE, H.; PÉRÈS, G.; MONOD, H. Standard anaerobic exercise tests. **Sports Medicine**, v.4, n.4, p.268-289, 1987.

WEBER, C.L.; SCHNEIDER, D.A. Reliability of MAOD measured at 110% and 120% of peak oxygen uptake for cycling. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v.33, n.6, p.1056-1059, 2001.

WEBSTER, M.J. et al. Effect of sodium bicarbonate ingestion on exhaustive resistance exercise performance. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v.25, n.8, p.960-965, 1993.

WEIR, J.P. Quantifying test–retest reliability using the intraclass correlation coefficient and the SEM. **Journal of Strength and Conditioning Research**, v.19, n.1, p.231–240, 2005.

WILKES, D.; GLEDHILL, N.; SMYTH, R. Effect of acute induced metabolic alkalosis on 800-m racing time. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v.15, n.4, p.277-280, 1983.

WORLD ANTI-DOPING AGENCY. **World anti-doping code international standard prohibited list. 2016**. Disponível em: < [wada-main-prod.s3.amazonaws.com/resources/files/wada-2016-prohibited-list-en.pdf](https://prod.s3.amazonaws.com/resources/files/wada-2016-prohibited-list-en.pdf) >. Acesso em 17 Jun. 2016.

ZAJAC, A. et al. Effects of sodium bicarbonate ingestion on swim performance in youth athletes. **Journal of Sports Science and Medicine**, v.8, n.1, p.45-50, 2009.

ZOELLER, R.F. et al. Effects of 28 days of beta-alanine and creatine monohydrate supplementation on aerobic power, ventilatory and lactate thresholds, and time to exhaustion. **Amino Acids**, v.33, n.3, p.505-510, 2007.

ANEXOS

ANEXO 1 – Termo de consentimento livre e esclarecido

Formulário E

ESCOLA DE EDUCAÇÃO FÍSICA E ESPORTE DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Comitê de Ética em Pesquisa

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

I - DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL

1. NOME DO INDIVÍDUO: _____
 Documento de identidade Nº: _____ Sexo: ☐ M ☐ F
 Data de nascimento: ____/____/____
 Endereço: _____ Nº _____ APTO _____
 Bairro: _____ Cidade: _____ CEP: _____
 Telefone: _____

II - DADOS SOBRE A PESQUISA CIENTÍFICA

1. Título do Projeto de Pesquisa
 Suplementação de β -alanina e bicarbonato de sódio: efeitos sobre a utilização dos sistemas energéticos durante o exercício anaeróbio intermitente
2. Pesquisador Responsável
 Prof. Dr. Antonio Herbert Lancha Junior
3. Cargo/Função
 Prof. Titular da EEFPE-USP
4. Avaliação do risco da pesquisa:
 RISCO MÍNIMO ☐ RISCO BAIXO ☒ RISCO MÉDIO ☐ RISCO MAIOR ☐
 (probabilidade de que o indivíduo sofra algum dano como consequência imediata ou tardia do estudo)
5. Duração da Pesquisa: **4 semanas**

III - EXPLICAÇÕES DO PESQUISADOR AO INDIVÍDUO OU SEU REPRESENTANTE LEGAL SOBRE A PESQUISA, DE FORMA CLARA E SIMPLES, CONSIGNANDO:

1. Esta pesquisa pretende investigar se o uso dos suplementos beta-alanina e bicarbonato de sódio, combinados ou não, podem melhorar o desempenho em exercícios de alta intensidade.
2. O estudo durará 4 semanas. Durante 4 semanas você ingerirá 4 vezes ao dia cápsulas contendo beta-alanina (suplemento) ou dextrose (placebo). Ao final da 4ª e última semana, você ingerirá cápsulas contendo bicarbonato de sódio (suplemento) ou carbonato de cálcio (placebo). Será realizado um sorteio para decidir se você tomará suplemento ou placebo. Nenhum pesquisador envolvido com as coletas saberá qual substância você tomará, assim como você também não saberá. Ao final do estudo, você será informado sobre quais substâncias esteve tomando.

Você fará 5 visitas. Na primeira visita, você será submetido a uma avaliação da capacidade aeróbia máxima e o consumo de oxigênio será mensurado através de equipamento específico por meio da máscara ergoespirométrica. Neste teste, a carga da bicicleta ergométrica será elevada progressivamente a cada 15 segundos até a falha na manutenção da velocidade, determinando-se assim, a potência máxima. Na segunda e terceira visitas, será realizado um teste intermitente (4 séries de 1min de duração cada com 1 min de intervalo entre as séries) a 110% da capacidade máxima encontrada na primeira visita. Nestes dias será realizada coleta de sangue do braço e da ponta do dedo antes, durante e após os testes. Dez minutos após o teste intermitente, será realizado um novo teste no qual você deverá percorrer na mesma bicicleta um trabalho total de 30 KJ no menor tempo possível. Você poderá ingerir água à vontade durante os testes, mas a alimentação das vésperas e dos dias de testes deverá ser sempre semelhante.

3. A suplementação de beta-alanina pode resultar em sensações de formigamento na pele que ocorrem cerca de 1 hora depois da ingestão e duram cerca de 20 minutos. Entretanto, a dose que você tomará é considerada segura e com risco muito baixo de efeitos colaterais. A ingestão de bicarbonato de sódio pode resultar em diarreia e vômitos, mas a dose que você tomará provavelmente não causará nenhum desconforto e efeito colateral. A introdução de agulha no braço ou na orelha não causará nenhum dano a você, exceto pela dor da picada no momento da introdução.

4. Ao participar como voluntário desta pesquisa, você terá direito a uma consulta nutricional. Nesta consulta, você receberá aconselhamento profissional sobre como pode melhorar seus hábitos alimentares. Você poderá tirar todas as dúvidas que tiver sobre alimentação. Você

Formulário E

também poderá receber aconselhamento de profissionais de Educação Física sobre como realizar treinamento físico adequado.

IV - ESCLARECIMENTOS DADOS PELO PESQUISADOR SOBRE GARANTIAS DO SUJEITO DA PESQUISA:

1. você terá acesso, a qualquer tempo, às informações sobre procedimentos, riscos e benefícios relacionados à pesquisa, inclusive para dirimir eventuais dúvidas;
2. você terá liberdade de retirar seu consentimento a qualquer momento e de deixar de participar do estudo, sem que isto traga prejuízo à continuidade da assistência;
3. todos os seus dados serão mantidos sob confidencialidade, sigilo e privacidade. Eles poderão ser utilizados para publicações científicas, mas sua identidade nunca será revelada;
4. estará a sua disponibilidade assistência no HU ou no HCFMUSP, por eventuais danos à saúde decorrentes da pesquisa.

V - INFORMAÇÕES DE NOMES, ENDEREÇOS E TELEFONES DOS RESPONSÁVEIS PELO ACOMPANHAMENTO DA PESQUISA, PARA CONTATO EM CASO DE INTERCORRÊNCIAS CLÍNICAS E REAÇÕES ADVERSAS.

Rafael Pires da Silva - Av. Prof. Mello Moraes, 65. Butantã. Tel: (11) 959309914
Guilherme Giannini Artioli – Av. Prof. Mello Moraes, 65. Butantã. Tel: (11) 3091-3096
Antonio H. Lancha Junior – Av. Prof. Mello Moraes, 65. Butantã. Tel: (11) 3091-3096

VII - CONSENTIMENTO PÓS-ESCLARECIDO

Declaro que, após convenientemente esclarecido pelo pesquisador e ter entendido o que me foi explicado, consinto em participar do presente Projeto de Pesquisa.

São Paulo, de de 20 .

assinatura do sujeito da pesquisa
ou responsável legal

assinatura do pesquisador
(carimbo ou nome legível)

[illegible]

ANEXO 3 - Aprovação dos procedimentos do estudo pelo Comitê de Ética local

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE EDUCAÇÃO FÍSICA E ESPORTE

Of.CEP/8712/EEFE/300812

Senhor(a) Pesquisador(a)

O Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Escola de Educação Física e Esporte da Universidade de São Paulo, em reunião ordinária realizada em 30 de agosto de 2012, **aprovou** a emenda e a prorrogação do Protocolo de Pesquisa nº 2010/01 - Efeito da suplementação de beta-alanina combinada ou não com bicarbonato de sódio sobre o desempenho anaeróbio intermitente, sob sua responsabilidade.

Solicitamos a observância da apresentação do relatório parcial e final da pesquisa, em junho de 2013 e junho de 2014, respectivamente.

Atenciosamente,

Profa. Dra. Maria Augusta Peduti Dal'Molin Kiss
Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa

Ilmo(a). Sr(a).
Prof(a). Dr(a). Antonio Herbert Lancha Junior
EEFEUSP

*Recibido
S.P. 05/09/12
Gauy*

Av. Professor Mello Moraes, 65
CEP 05508-030 - São Paulo - SP - Brasil
Fone/fax: 55 11 3091-3097

ANEXO 4 – Ficha do diário alimentar de 3 dias

INSTRUÇÕES PARA PREENCHIMENTO DO DIÁRIO ALIMENTAR

- Anote absolutamente tudo que ingerir durante 3 dias (incluindo água e líquidos).
- Anote o que comeu com o maior número possível de detalhes (tamanho das porções, dos alimentos, e etc.) Abaixo você pode ver um exemplo de como preencher o diário
- Comece a anotar o que come a partir do dia _____.

Refeição	Alimento e forma de preparo	Quantidade
<i>Caf. Manhã</i>	<i>Pão de forma Pullman</i>	<i>2 fatias</i>
	<i>Mussarela</i>	<i>2 fatias finas de máquina</i>
	<i>Requeijão Poços de Caldas</i>	<i>2 colheres de sopa</i>
	<i>Peito de Peru</i>	<i>2 fatias grossas de máquina</i>
	<i>Leite Desnatado Parmalat</i>	<i>1 copo de requeijão</i>
	<i>Achocolatado em pó Tody</i>	<i>2 colheres sopa</i>
	<i>Açúcar refinado</i>	<i>1 colher sopa rasa</i>
	<i>Água</i>	<i>1 copo de requeijão</i>
<i>Lanche</i>	<i>banana nanica</i>	<i>1 unidade ($\pm$ 10 cm)</i>
	<i>Água</i>	<i>1 copo de requeijão</i>
<i>Almoço</i>	<i>arroz branco</i>	<i>1 escumadeira cheia</i>
	<i>bife acebolado</i>	<i>1 pedaço grande</i>
	<i>etc. . .</i>	