UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE EDUCAÇÃO FÍSICA E ESPORTE

Estudo da cinética de *washout* da carnosina muscular após a
suplementação de β -alanina

Guilherme de Carvalho Yamaguchi

São Paulo
2018

GUILHERME DE CARVALHO YAMAGUCHI

Estudo da cinética de *washout* da carnosina muscular após a
suplementação de β -alanina

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

Área de concentração: Departamento de Biodinâmica do Movimento Humano.

Orientador: Prof. Dr. Bruno Gualano

SÃO PAULO

2018

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

Yamaguchi, Guilherme de Carvalho

Estudo da cinética de washout da carnosina muscular após a
suplementação de β -alanina / Guilherme de Carvalho Yamaguchi.
-- São Paulo :[s.n.], 2018.

82p.

Dissertação (Mestrado) - Escola de Educação Física e
Esporte da Universidade de São Paulo.

Orientador: Prof. Dr. Bruno Gualano

1. Desempenho físico 2. Suplemento alimentar 3. Nutrição
I. Título.

RESUMO

YAMAGUCHI, GC. **Estudo da cinética de *washout* da carnosina muscular após a suplementação de β -alanina**. 2018. 102 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Escola de Educação Física e Esportes, Universidade de São Paulo, São Paulo. 2018

A β -alanina tem se tornado um suplemento nutricional bastante popular entre atletas de diferentes modalidades esportivas. A razão para tal popularidade deve-se ao grande número de evidências indicando que sua suplementação pode aumentar as concentrações intramusculares de L-carnosina. Com a interrupção da suplementação de β -alanina (BA), a degradação e eliminação da carnosina prevalecem sobre sua síntese, ocorrendo assim o chamado *washout*. O objetivo do presente trabalho foi avaliar a cinética de *washout* da carnosina durante 16 semanas após a suplementação de BA, associando as mudanças no conteúdo de carnosina muscular com o desempenho em exercício de alta intensidade. Foram recrutados 15 homens fisicamente ativos, não vegetarianos, a qual foram designados aleatoriamente em dois grupos, BA ($n=11$) ou PL ($n=4$). Cada participante recebeu a suplementação de BA ou PL (dextrose) em tabletes de liberação prologada (NAI®, USA) na dose de 6,4/d durante 8 semanas em um desenho duplo-cego. Amostras do músculo vasto lateral foram colhidas por meio de biópsia muscular, realizadas antes (S01) e após as 8 semanas (S02) de suplementação, bem como na 1ª (W01), 2ª (W02), 4ª (W03), 8ª (W04), 12ª (W05) e 16ª (W06) semanas após suplementação. Adicionalmente, um teste de tolerância ao esforço de alta intensidade (110% da potência máxima) foi aplicado no tempo S01 e S02, assim como nos tempos W03, W04, W05 e W06 para determinar o Tempo até a Exaustão (TTE). Após 8 semanas de suplementação, foi observada uma diferença significativa do conteúdo de carnosina muscular entre o grupo BA ($40,76 \pm 12,29$ mmol/Kg) e o grupo PL ($18,74 \pm 1,22$ mmol/Kg; $p=0,0040$). O delta médio absoluto observado do grupo BA foi de $18,73 \pm 5,80$ mmol/Kg (+ 85%) e, o grupo PL - $0,15 \pm 1,78$ mmol/Kg (- 0,7%). Após W02 o grupo BA apresentava $17,35 \pm 8,99$ mmol/Kg de carnosina (~ 79%; $p=0,4667$) e após W03, o conteúdo médio verificado foi $12,43 \pm 8,95$ mmol/Kg (~ 56%) no grupo BA, ($p=0,0378$). Após W04 o grupo BA apresentava o delta médio de $6,9 \pm 8,30$ mmol/Kg (~ 38%; $p<0,0001$) e após W05, $2,91 \pm 6,76$ mmol/Kg (~ 13%; $p<0,0001$). Após W06, o conteúdo de carnosina retornou próximo aos valores basais em $21,91 \pm 7,99$ mmol/Kg ($p=1,000$). Após o período de suplementação (S02), o TTE não apresentou diferença significativa entre o grupo BA, $150,95 \pm 19,31$ segundos, e o grupo PL, $153,78 \pm 13,08$ ($p=0,8184$). Foi possível observar uma forte correlação linear positiva ($r=0,8995$) e significativa ($p=0,01492$) entre o conteúdo de carnosina muscular e o desempenho físico. Conclui-se que a carnosina é um dipeptídeo estável na musculatura esquelética, podendo levar um tempo de 16 semanas ou mais para retornar aos valores.

Palavras-chave: Decaimento; tamponamento; músculo; β -alanina; carnosina.

ABSTRACT

YAMAGUCHI, GC. **The kinetics of muscle carnosine washout after β -alanine supplementation.** 2018. 102 f. Dissertação (Mestrado em ciências) – Escola de Educação Física e Esportes, Universidade de São Paulo, São Paulo. 2018

β -alanine has become a popular nutritional supplement among athletes of different sports modalities. The reason for such popularity is due to the large number of evidences indicating that its supplementation may increase intramuscular concentrations of L-carnosine. With the interruption of β -alanine (BA) supplementation, the degradation and elimination of carnosine prevail over its synthesis, thus occurring the washout. The aim of this study was to evaluate carnosine washout kinetics for 16 weeks after BA supplementation, associating changes in muscle carnosine content with high intensity exercise performance. Fifteen physically active, non-vegetarian males were randomly assigned in two groups, BA (n = 11) or PL (n = 4). Each participant received supplementation of BA or PL (dextrose) in sustained-release tablets (NAL®, USA) at a dose of 6.4g. d⁻¹ for 8 weeks in a double-blind design. Samples of the vastus lateralis muscle were collected by muscle biopsy performed before (S01) and after 8 weeks (S02) of supplementation, additionally in the 1st (W01), 2nd (W02) 4th (W03), 8th (W04), 12th (W05) and 16th (W06) weeks after supplementation. In addition, a high intensity exercise test (110% of maximum power) was performed at time S01 and S02, W03, W04, W05 and W06 to determine Time to Exhaustion (TTE). After 8 weeks of supplementation, a significant difference in muscle carnosine content was observed between the BA group (40.76 ± 12.29 mmol.kg⁻¹) and the PL group (18.74 ± 1.22 mmol.kg⁻¹; $p = 0.0040$). The absolute mean delta of the BA group was 18.73 ± 5.80 mmol.kg⁻¹ (+ 85%) and, the PL group - 0.15 ± 1.78 mmol.kg⁻¹ (-0.7%). After W02 the BA group showed 17.35 ± 8.99 mmol.kg⁻¹ carnosine (~ 79%, $p = 0.4667$), and after W03, the mean content was 12.43 ± 8.95 mmol.kg⁻¹ (~ 56%) in the BA group, ($p = 0.0378$). After W04 the BA mean delta was 6.9 ± 8.30 mmol.kg⁻¹ (~ 38%, $p < 0.0001$) and after W05, 2.91 ± 6.76 mmol.kg⁻¹ (~ 13%, $p < 0.0001$). After W06, the carnosine content returned to baseline levels in BA group 21.91 ± 7.99 mmol. Kg⁻¹ ($p = 1,000$). After the supplementation period (S02), the TTE showed no significant difference between the BA group 150.95 ± 19.31 seconds and the PL group, 153.78 ± 13.08 ($p = 0.8184$). There was a strong positive linear correlation ($r = 0.8995$) and significant ($p = 0.01492$) between muscle carnosine content and performance. The present study shows that carnosine is a stable dipeptide in the skeletal muscle, which may take 16 weeks or longer to return to the baseline levels.

Key-words: Decay; buffering; muscle; β -alanine; carnosine.

1 INTRODUÇÃO

A β -alanina tem se tornado um suplemento nutricional bastante popular entre atletas de diferentes modalidades esportivas. A razão para tal popularidade deve-se ao grande número de evidências indicando que sua suplementação pode aumentar as concentrações intramusculares de L-carnosina (β -alanil-L-histidina) em cerca de 40 – 80 % (DERAVE et al. 2007; HARRIS et al. 2006; HILL et al. 2007). Estudos têm consistentemente demonstrado que o carregamento da carnosina culmina no aumento do limiar da fadiga e consequente melhora do desempenho em exercícios de alta intensidade (BLANCQUAERT; EVERAERT; DERAIVE, 2015). A carnosina é sintetizada principalmente no músculo esquelético pela ligação do aminoácido essencial L-histidina ao aminoácido β -alanina, em uma reação catalisada pela enzima carnosina sintase (BOLDYREV et al. 2013). Na dieta, a carnosina pode ser consumida principalmente através do consumo de carnes e peixes (PARK; VOLPE; DECKER, 2005). No entanto, sua absorção intacta é afetada pela presença da enzima carnosinase no trato gastrointestinal, a qual hidrolisa o dipeptídeo em seus aminoácidos constituintes (ASATOOR et al. 1970). Sabe-se que o músculo não é capaz de captar carnosina da corrente sanguínea em sua forma intacta, devido à ausência de transportadores de carnosina nas membranas das células musculares (HARRIS et al. 2006).

Várias funções fisiológicas para a carnosina têm sido descritas na literatura, incluindo ação antioxidante (BOLDYREV et al. 1993), regulação da sensibilidade ao cálcio (Ca^{++}) no aparato contrátil (DUTKA et al. 2012; LAMONT; MILLER, 1992), função anti-glicação de proteínas (HIPKISS; MICHAELIS; SYRRIS, 1995) e, principalmente, regulação do pH intracelular, uma vez que sua constante de dissociação (pKa) encontra-se próxima aos valores fisiológicos de 6,83 a 7,01 (ABE, 2000; ARTIOLI; GUALANO; LANCHETA JUNIOR, 2009). É conhecido que a acidose muscular pode contribuir significativamente para a fadiga durante o exercício de alta intensidade (FITTS, 1994). Assim, o aumento da carnosina poderia aumentar a capacidade de tamponamento intramuscular, potencialmente postergando a fadiga muscular e a queda do desempenho (HOBSON et al. 2012).

Embora estudos demonstrem que a suplementação de β -alanina é uma estratégia eficaz em aumentar as concentrações de carnosina muscular (HARRIS et al., 2006, HILL et al. 2007; DERAIVE et al. 2007; DEL FAVERO et al. 2011; SAUNDERS et al. 2016), ainda não se sabe se existe um limite superior para o acúmulo de carnosina no músculo (i.e. um ponto de saturação). Os estudos até então demonstram que o acúmulo de carnosina é primariamente dependente da quantidade de β -alanina ofertada ao longo do tempo (DUNNETT; HARRIS, 1999; STELLINGWERFF; DECOMBAZ; et al. 2012) e, ainda que seja plausível assumir que exista um limite superior para acúmulo de carnosina nos músculos, nenhum estudo até hoje foi capaz de demonstrar tal limite. Da mesma forma, estudos sobre o tempo de *washout* e, em especial, sobre a cinética de *washout* da carnosina ainda são escassos. Embora assumam-se que, quanto maior a concentração de carnosina no músculo, maior será a tolerância ao exercício de alta intensidade, a literatura ainda carece de dados que demonstrem de maneira clara a associação entre diferentes níveis de carnosina muscular e a capacidade de tolerar esforços. Cabe ressaltar que a caracterização precisa dessas variáveis traz informações importantes sobre as melhores estratégias de suplementação de β -alanina, com implicações tanto para o desempenho físico e esportivo, como para seu potencial uso terapêutico (GARIBALLA; SINCLAIR, 2000; QUINN; BOLDYREV; FORMAZUYK, 1992).

Sabe-se que a hidrólise da carnosina é catalisada pela enzima carnosinase, existente em duas isoformas no corpo humano (TEUFEL et al. 2003). A primeira é descrita como carnosinase sérica ou CN1 (EC 3.4.13.20) altamente ativa no plasma. A segunda isoforma é descrita como carnosinase tecidual (CN2) ou carnosinase citosólica não-específica (EC 3.4.13.18), que exibe baixa atividade no tecido muscular esquelético (TEUFEL et al. 2003). Quando as concentrações musculares de carnosina são elevadas através da suplementação de β -alanina, a mesma parece manter-se estável por um período relativamente longo de tempo. Estudos iniciais sobre o *washout* da carnosina indicam que tal processo é lento, sugerindo que, embora a enzima CN2 esteja presente no músculo, sua atividade parece ser muito baixa em humanos (SALE et al. 2013). Baguet et al. (2009) foram os primeiros a avaliar o período de *washout* da carnosina em diferentes grupos musculares após a suplementação crônica de β -alanina. Foi observada uma taxa de depuração de 2 – 4% por

semana e o tempo estimado para que as concentrações retornassem ao basal variaram de 9 a 15 semanas após o término da suplementação. Posteriormente, Stellingwerff et al. (2012) também avaliaram o tempo de *washout* da carnosina em indivíduos suplementados com β -alanina durante 8 semanas. Foi demonstrado que seriam necessárias de 15 a 20 semanas de *washout* após o aumento de ~30 – 45 % de carnosina muscular, para o retorno aos valores basais de carnosina. Assim, os autores sugerem que, uma vez elevadas as concentrações musculares de carnosina, qualquer benefício em potencial sobre o desempenho manter-se-ia por 4 - 6 semanas após o término da suplementação. Tal hipótese, no entanto, ainda permanece sem confirmação.

A despeito da existência dos estudos que demonstraram resultados semelhantes sobre a cinética de *washout* da carnosina, é importante ressaltar que ambos basearam suas medidas de carnosina muscular em análises de Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (H-RMN). Tal método ainda não foi validado para essa finalidade, e existem potenciais problemas com o sinal oriundo da carnosina (SOLIS et al. 2015). Nesse sentido, a literatura ainda carece de estudos que confirmem a cinética de *washout* utilizando-se de método padrão-ouro de quantificação da carnosina muscular, a saber, cromatografia líquida de alto desempenho em amostras de biópsia muscular.

A aplicação H-RMN no estudo do músculo esquelético tem recebido um interesse considerável da comunidade científica por fornecer, de forma não invasiva, informações importantes sobre uma gama de metabólitos (OZDEMIR et al. 2007). Além da quantificação de outros compostos musculares, é possível quantificar a carnosina por meio da H-RMN. Tal método baseia-se nas propriedades únicas dos prótons que apresentam grupos imidazóis das subunidades histidínicas da carnosina, que os fazem visíveis na região baixa do espectro do músculo esquelético (PAN et al. 1988). Dessa forma, a carnosina pode apresentar visibilidade limitada no espectro. Ainda que aplicado em diversos estudos (BAGUET et al. 2009; DERAIVE et al. 2007; STELLINGWERFF; ANWANDER; et al. 2012), os dados obtidos pelo método de H-RMN ainda não foram comparados com o método padrão ouro de biópsia muscular por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (ou HPLC, do inglês - *High Performance Liquid Chromatography*). Apenas um estudo (BAGUET et al. 2011)

quantificou a carnosina muscular e comparou diretamente os valores obtidos pelos métodos de H-RMN e HPLC, onde foi encontrado uma correlação moderada ($r = 0.517$) entre os métodos. Apesar dos esforços iniciais de Baguet et al. (2011) em demonstrar a validade da H-RMN para quantificação da carnosina muscular, a literatura ainda carece de estudos de validação completos e bem conduzidos. Portanto, ainda não se pode afirmar que a H-RMN é um método confiável e válido de mensuração da carnosina. Especula-se, na verdade, que tal método seja pouco sensível (devido ao fraco sinal da carnosina), não específico (devido à quantificação do anel imidazol, e não da carnosina), e possivelmente não-linear, já que os estudos de quantificação utilizam uma única referência externa (fantoma de concentração única e consequente extrapolação) em vez de diferentes referências dentro da faixa de variação fisiológica (fantomas para construção de curva padrão e consequente interpolação).

Devido às limitações metodológicas dos estudos que avaliaram os períodos de *washout*, ainda não sabemos com precisão qual o comportamento da cinética de desaparecimento da carnosina muscular após um período de suplementação de β -alanina. Baguet et al. (2009) demonstraram que após 3 semanas as concentrações de carnosina muscular reduziram em ~30%, e após 6 semanas os valores retornaram aos níveis basais. No entanto, os indivíduos classificados como altamente responsivos à suplementação ainda exibiam concentrações elevadas de carnosina muscular durante a 9ª semana, atingindo os níveis basais na 15ª semana, aproximadamente. Contudo, o estudo limitou-se a avaliar as concentrações de carnosina em apenas dois momentos após o término da suplementação. Do mesmo modo, Stellingwerff et al. (2011), avaliaram em apenas dois momentos as concentrações de carnosina durante 8 semanas após o término da suplementação. Considerando os dados limitados de tempo de *washout*, não é possível ainda estabelecer um período seguro de sua eliminação, tampouco sua cinética de eliminação, uma vez que vários fatores poderiam prolongar esse tempo.

A origem do processo de eliminação da carnosina ainda permanece sem respostas. Segundo Stegen et al. (2013), vários mecanismos poderiam explicar a cinética de *washout* da carnosina muscular. No entanto, especula-se que a taxa de degradação da carnosina parece estar positivamente relacionada ao próprio conteúdo. É possível que o conteúdo de carnosina muscular possa

influenciar a sua taxa de degradação, de forma que sua taxa seja maior no início do *washout* e menor ao longo do tempo. No entanto, tal hipótese ainda não foi investigada.

7 CONCLUSÃO

Concluimos que a carnosina é um dipeptídeo relativamente estável na musculatura esquelética, podendo levar um tempo superior a 16 semanas para retornar aos seus valores basais após a suplementação de β -alanina. Além disso, o retorno do conteúdo da carnosina muscular parece estar associada a queda concomitante do desempenho físico de alta intensidade e curta duração.

REFERÊNCIAS

- ABE, H. Role of histidine-related compounds as intracellular proton buffering constituents in vertebrate muscle. **Biochemistry (Mosc)**, v. 65, n. 7, p. 757-65, Jul 2000.
- ALLEN, D. G.; LAMB, G. D.; WESTERBLAD, H. Skeletal muscle fatigue: cellular mechanisms. **Physiol Rev**, v. 88, n. 1, p. 287-332, Jan 2008.
- ANDERSON, C. M. et al. Taurine uptake across the human intestinal brush-border membrane is via two transporters: H⁺-coupled PAT1 (SLC36A1) and Na⁺- and Cl⁻-dependent TauT (SLC6A6). **J Physiol**, v. 587, n. Pt 4, p. 731-44, Feb 15 2009.
- ARTIOLI, G. G.; GUALANO, B.; LANCHA JUNIOR, A. H. Suplementação de beta-alanina: uma nova estratégia nutricional para melhorar o desempenho esportivo. **Revista Mackenzie de Educação Física e Esporte**, v. 8, p. 15, 2009.
- ARTIOLI, G. G. et al. Role of beta-alanine supplementation on muscle carnosine and exercise performance. **Med Sci Sports Exerc**, v. 42, n. 6, p. 1162-73, Jun 2010.
- ASATOOR, A. M. et al. Intestinal absorption of carnosine and its constituent amino acids in man. **Gut**, v. 11, n. 3, p. 250-4, Mar 1970.
- BAGUET, A. et al. Effects of sprint training combined with vegetarian or mixed diet on muscle carnosine content and buffering capacity. **Eur J Appl Physiol**, v. 111, n. 10, p. 2571-80, Oct 2011.
- BAGUET, A. et al. A new method for non-invasive estimation of human muscle fiber type composition. **PLoS One**, v. 6, n.7 e21956, p. 1-6, Jul 2011.
- BAGUET, A. et al. Carnosine loading and washout in human skeletal muscles. **J Appl Physiol (1985)**, v. 106, n. 3, p. 837-42, Mar 2009.
- BAILEY, C.H. et al. Beta-alanine does not enhance the effects of resistance training in older adults. **J Diet Suppl**, v. 2, n.15, 2018.
- BAKARDJIEV, A.; BAUER, K. Transport of beta-alanine and biosynthesis of carnosine by skeletal muscle cells in primary culture. **Eur J Biochem**, v. 225, n. 2, p. 617-23, Oct 15 1994.
- BASSINELLO, D. et al. Beta-alanine supplementation improves isometric, but not isotonic or isokinetic strength endurance in recreationally strength-trained young men. **Amino Acids**, June, 2018.
- BAUER, K.; SCHULZ, M. Biosynthesis of carnosine and related peptides by skeletal muscle cells in primary culture. **Eur J Biochem**, v. 219, n. 1-2, p. 43-7, Jan 15 1994.

BERGSTROM, J. Muscle electrolytes in man determination by neutron activation analysis on needle biopsy specimens. A study on normal subjects, kidney patients and patients with chronic diarrhea. **Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation**, v. 14, p. 100–110, 1962.

BERGSTROM, J. Percutaneous Needle Biopsy of Skeletal Muscle in Physiological and Clinical Research. **Scand. J. Clin. Lab. Invest.**, v. 35, p. 609 – 616, 1975.

BEX, T. et al. Muscle carnosine loading by beta-alanine supplementation is more pronounced in trained vs. untrained muscles. **J Appl Physiol (1985)**, v. 116, n. 2, p. 204-9, Jan 15 2014.

BLANCQUAERT, L. et al. Carnosine and anserine homeostasis in skeletal muscle and heart is controlled by beta-alanine transamination. **J Physiol**, v. 594, n. 17, p. 4849-63, Sep 01 2016.

BLANCQUAERT, L.; EVERAERT, I.; DERAIVE, W. Beta-alanine supplementation, muscle carnosine and exercise performance. **Curr Opin Clin Nutr Metab Care**, v. 18, n. 1, p. 63-70, Jan 2015.

BOLDYREV, A. A. Carnosine: new concept for the function of an old molecule. **Biochemistry (Mosc)**, v. 77, n. 4, p. 313-26, Apr 2012.

BOLDYREV, A. A.; ALDINI, G.; DERAIVE, W. Physiology and pathophysiology of carnosine. **Physiol Rev**, v. 93, n. 4, p. 1803-45, Oct 2013.

BOLDYREV, A. A. et al. The antioxidative properties of carnosine, a natural histidine containing dipeptide. **Biochem Int**, v. 15, n. 6, p. 1105-13, Dec 1987.

BOLDYREV, A. A. et al. Antioxidative properties of histidine-containing dipeptides from skeletal muscles of vertebrates. **Comp Biochem Physiol B**, v. 89, n. 2, p. 245-50, 1988.

BOLDYREV, A. A.; GALLANT, S. C.; SUKHICH, G. T. Carnosine, the protective, anti-aging peptide. **Biosci Rep**, v. 19, n. 6, p. 581-7, Dec 1999.

BOLDYREV, A. A. et al. Natural histidine-containing dipeptide carnosine as a potent hydrophilic antioxidant with membrane stabilizing function. A biomedical aspect. **Mol Chem Neuropathol**, v. 19, n. 1-2, p. 185-92, May-Jun 1993.

BRISOLA, G.M.P., et al. Four weeks of beta-alanine supplementation improves high-intensity game activities in water polo. **Int J Sports Physiol Perform**, v. 13, 2018.

CHUNG, W. et al. Doubling of muscle carnosine concentration does not improve laboratory 1-hr cycling time-trial performance. **Int J Sport Nutr Exerc Metab**, v. 24, n. 3, p. 315-24, Jun 2014.

CHURCH, D.D. et al. Comparison of two beta-alanine dosing protocols on muscle carnosine elevations. **J Am Coll Nutr**. Vol. 36, n. 8, p. 608 – 616, 2017.

CLAUS, G.M et al. β -Alanine Supplementation Improves Throwing Velocities in Repeated Sprint Ability and 200-m Swimming Performance in Young Water Polo Players. **Pediatric Exercise Sciences**, oct, 2017.

CROZIER, R. A. et al. MrgD activation inhibits KCNQ/M-currents and contributes to enhanced neuronal excitability. **J Neurosci**, v. 27, n. 16, p. 4492-6, Apr 18 2007.

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. **Eur J Appl Physiol**, v. 114, n. 8, p. 1715-24, Aug 2014.

DANIEL, H.; KOTTRA, G. The proton oligopeptide cotransporter family SLC15 in physiology and pharmacology. **Pflugers Arch**, v. 447, n. 5, p. 610-8, Feb 2004.

DE SALLES PAINELLI, V. et al. Metabolismo da carnosina, suplementação de beta-alanina e desempenho físico: atualização - parte 1. **Revista Brasileira de Nutrição Esportiva**, v. 9, n. 52, p. 17, 2015.

DECOMBAZ, J. et al. Effect of slow-release beta-alanine tablets on absorption kinetics and paresthesia. **Amino Acids**, v. 43, n. 1, p. 67-76, Jul 2012.

DEL FAVERO, S. et al. Beta-alanine (Carnosyn) supplementation in elderly subjects (60-80 years): effects on muscle carnosine content and physical capacity. **Amino Acids**, v. 43, n. 1, p. 49-56, Jul 2012.

DERAVE, W. et al. Muscle carnosine metabolism and beta-alanine supplementation in relation to exercise and training. **Sports Med**, v. 40, n. 3, p. 247-63, Mar 01 2010.

DERAVE, W. et al. beta-Alanine supplementation augments muscle carnosine content and attenuates fatigue during repeated isokinetic contraction bouts in trained sprinters. **J Appl Physiol (1985)**, v. 103, n. 5, p. 1736-43, Nov 2007.

DE ANDRADE KRATZ, C. et al. Beta-alanine supplementation enhances judo-related performance in high-trained athletes. Beta-alanine supplementation enhances judo-related performance in highly-trained athletes. **Journal of Science and Medicine in Sport**, 2016.

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**. Vol. 5. Num. 20. 2013. p.525-532.

DEVLIN, T.M. **Manual de Bioquímica com correlações clínicas**. São Paulo: Edgard Blucher, 2011.

DONG, X. et al. A diverse family of GPCRs expressed in specific subsets of nociceptive sensory neurons. **Cell**, v. 106, n. 5, p. 619-32, Sep 07 2001.

DROZAK, J. et al. Molecular identification of carnosine synthase as ATP-grasp domain-containing protein 1 (ATPGD1). **J Biol Chem**, v. 285, n. 13, p. 9346-56, Mar 26 2010.

DUNNETT, M.; HARRIS, R. C. Influence of oral beta-alanine and L-histidine supplementation on the carnosine content of the gluteus medius. **Equine Vet J Suppl**, n. 30, p. 499-504, Jul 1999.

DUNNET, M. et al. Plasma carnosine concentration: diurnal variation and effects of age, exercise and muscle damage. **Equine vet. J**, n. 34, p.283-287, Sep 2002.

DUTKA, T. L. et al. Effects of carnosine on contractile apparatus Ca^{2+} sensitivity and sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} release in human skeletal muscle fibers. **J Appl Physiol** (1985), v. 112, n. 5, p. 728-36, Mar 2012.

EVERAERT, I. et al. Gene expression of carnosine-related enzymes and transporters in skeletal muscle. **Eur J Appl Physiol**, v. 113, n. 5, p. 1169-79, May 2013.

EVERAERT, I. et al. Vegetarianism, female gender and increasing age, but not CNBP1 genotype, are associated with reduced muscle carnosine levels in humans. **Amino Acids**, v. 40, n. 4, p. 1221-9, Apr 2011.

FEI, Y. J. et al. Expression cloning of a mammalian proton-coupled oligopeptide transporter. **Nature**, v. 368, n. 6471, p. 563-6, Apr 07 1994.

FITTS, R. H. The Role of Acidosis in Fatigue: Pro Perspective. **Med Sci Sports Exerc**, v. 48, n. 11, p. 2335-2338, Nov 2016.

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

FREITAS, P. et al. Metabolismo da Carnosina, Suplementação de β -alanina e desempenho físico: Atualização - parte II. **Revista Brasileira de Nutrição Esportiva**, v. 9, p. 20, 2015.

FRITZSON, P.; PIHL, A. The catabolism of C^{14} -labeled uracil, dihydrouracil, and beta-ureidopropionic acid in the intact rat. **J Biol Chem**, v. 226, n. 1, p. 229-35, May 1957.

GARDNER, M. L. et al. Intestinal absorption of the intact peptide carnosine in man, and comparison with intestinal permeability to lactulose. **J Physiol**, v. 439, p. 411-22, Aug 1991.

GARIBALLA, S. E.; SINCLAIR, A. J. Carnosine: physiological properties and therapeutic potential. **Age Ageing**, v. 29, n. 3, p. 207-10, May 2000.

GULEWITCH, W.S., AMIRADZIBI S. Zur Über das Carnosin, eine neue organische Base des Fleischextraktes. **Ber Deutsch Chem Ges B33**: S1902–S1903, 1900.

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

HARRIS, R. C. et al. Muscle buffering capacity and dipeptide content in the thoroughbred horse, greyhound dog and man. **Comp Biochem Physiol A Comp Physiol**, v. 97, n. 2, p. 249-51, 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. 279-89, May 2006.

HARTMAN, P. E.; HARTMAN, Z.; AULT, K. T. Scavenging of singlet molecular oxygen by imidazole compounds: high and sustained activities of carboxy terminal histidine dipeptides and exceptional activity of imidazole-4-acetic acid. **Photochem Photobiol**, v. 51, n. 1, p. 59-66, Jan 1990.

HEISLER, N. Buffering and H⁺ ion dynamics in muscle tissues. **Respir Physiol Neurobiol**, v. 144, n. 2-3, p. 161-72, Dec 15 2004.

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. 225-33, Feb 2007.

HIPKISS, A. R.; MICHAELIS, J.; SYRRIS, P. Non-enzymatic glycosylation of the dipeptide L-carnosine, a potential anti-protein-cross-linking agent. **FEBS Lett**, v. 371, n. 1, p. 81-5, Aug 28 1995.

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

HOFFMAN, J. R. et al. beta-alanine supplementation improves tactical performance but not cognitive function in combat soldiers. **J Int Soc Sports Nutr**, v. 11, n. 1, p. 15, Apr 10 2014.

HORINISHI, H.; GRILLO, M.; MARGOLIS, F. L. Purification and characterization of carnosine synthetase from mouse olfactory bulbs. **J Neurochem**, v. 31, n. 4, p. 909-19, Oct 1978.

HOSTRUP, M.; BANGSBO, J. Improving beta-alanine supplementation strategy to enhance exercise performance in athletes. **J Physiol**, v. 594, n. 17, p. 4701-2, Sep 01 2016.

HULTMAN, E.; SAHLIN, K. Acid-base balance during exercise. **Exerc Sport Sci Rev**, v. 8, p. 41-128, 1980.

HULTMAN, E. et al. Muscle creatine loading in men. **J Appl Physiol** (1985), v. 81, n. 1, p. 232-7, Jul 1996.

JACKSON, M. C.; KUCERA, C. M.; LENNEY, J. F. Purification and properties of human serum carnosinase. **Clin Chim Acta**, v. 196, n. 2-3, p. 193-205, Feb 15 1991.

JONES G, SMITH M, HARRIS R. Imidazole dipeptide content of dietary sources commonly consumed within the British diet. **Proc Nut Soc** 2011; 70:363.

JONES G, SMITH M AND HARRIS R. Imidazole dipeptide content of dietary sources commonly consumed within the British diet. **Proc Nutr Soc**, v.70, 2011p.p. E363.

JONG, C. J.; AZUMA, J.; SCHAFFER, S. Mechanism underlying the antioxidant activity of taurine: prevention of mitochondrial oxidant production. **Amino Acids**, v. 42, n. 6, p. 2223-32, Jun 2012.

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

KALYANKAR, G. D.; MEISTER, A. Enzymatic synthesis of carnosine and related beta-alanyl and gamma-aminobutyryl peptides. **J Biol Chem**, v. 234, p. 3210-8, Dec 1959.

KELLY, V. G. et al. Prevalence, knowledge and attitudes relating to beta-alanine use among professional footballers. **J Sci Med Sport**, v. 20, n. 1, p. 12-16, Jan 2017.

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. 547-54, May 2008.

KENDRICK, I. P. et al. The effect of 4 weeks beta-alanine supplementation and isokinetic training on carnosine concentrations in type I and II human skeletal muscle fibres. **Eur J Appl Physiol**, v. 106, n. 1, p. 131-8, May 2009.

KOHEN, R. et al. Antioxidant activity of carnosine, homocarnosine, and anserine present in muscle and brain. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 85, n. 9, p. 3175-9, May 1988.

LAMONT, C.; MILLER, D. J. Calcium sensitizing action of carnosine and other endogenous imidazoles in chemically skinned striated muscle. **J Physiol**, v. 454, p. 421-34, Aug 1992.

LENNEY, J. F. Human cytosolic carnosinase: evidence of identity with prolinase, a non-specific dipeptidase. **Biol Chem Hoppe Seyler**, v. 371, n. 2, p. 167-71, Feb 1990.

LENNEY, J. F. et al. Human serum carnosinase: characterization, distinction from cellular carnosinase, and activation by cadmium. **Clin Chim Acta**, v. 123, n. 3, p. 221-31, Aug 18 1982.

MANNION, A.F., et al. Carnosine and anserine concentrations in the quadriceps femoris muscle of healthy humans. **Eur J Appl Physiol** 64:47–50, 1992.

MATTHEWS, D. M.; ADIB, S. A. Peptide Absorption. **Gastroenterology**, v. 71, n. 1, p. 10, 1976.

MATTHEWS, M. M.; TRAUT, T. W. Regulation of N-carbamoyl-beta-alanine amidohydrolase, the terminal enzyme in pyrimidine catabolism, by ligand-induced change in polymerization. **J Biol Chem**, v. 262, n. 15, p. 7232-7, May 25 1987.

MCCORMACK, W. P. et al. Oral nutritional supplement fortified with beta-alanine improves physical working capacity in older adults: a randomized, placebo-controlled study. **Exp Gerontol**, v. 48, n. 9, p. 933-9, Sep 2013.

MORA, L; SENTANDREU, M.A; TOLDRA F. Hydrophilic chromatographic determination of carnosine, anserine, balenine, creatine, and creatinine. **J Agri Food Chem**, v.55, p. 4664-4669, 2007.

OZDEMIR, M. S. et al. Absolute quantification of carnosine in human calf muscle by proton magnetic resonance spectroscopy. **Phys Med Biol**, v. 52, n. 23, p. 6781-94, Dec 07 2007.

PAN, J. W. et al. Intracellular pH in human skeletal muscle by ¹H NMR. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 85, n. 21, p. 7836-9, Nov 1988.

PARILDAR-KARPUZOGLU, H. et al. Decreases in taurine levels induced by beta-alanine treatment did not affect the susceptibility of tissues to lipid peroxidation. **Amino Acids**, v. 32, n. 1, p. 115-9, Jan 2007.

PARK, Y. J.; VOLPE, S. L.; DECKER, E. A. Quantitation of carnosine in humans plasma after dietary consumption of beef. **J Agric Food Chem**, v. 53, n. 12, p. 4736-9, Jun 15 2005.

PARKHOUSE, W. S. et al. Buffering capacity of deproteinized human vastus lateralis muscle. **J Appl Physiol (1985)**, v. 58, n. 1, p. 14-7, Jan 1985.

PEDERSEN, T. H. et al. Intracellular acidosis enhances the excitability of working muscle. **Science**, v. 305, n. 5687, p. 1144-7, Aug 20 2004.

PERRY, T. L. et al. Carnosinemia. A new metabolic disorder associated with neurologic disease and mental defect. **N Engl J Med**, v. 277, n. 23, p. 1219-27, Dec 07 1967.

PERRY, T. L; HANSEN, S; LOVE, D.L. Serum carnosinase deficiency in carnosinaemia. **The Lancet**, v.8, p. 1229 – 1230, 1968.

PETERS, V. et al. Relevance of allosteric conformations and homocarnosine concentration on carnosinase activity. **Amino Acids**, v. 38, n. 5, p. 1607-15, May 2010.

PLACE, N.; BRUTON, J. D.; WESTERBLAD, H. Mechanisms of fatigue induced by isometric contractions in exercising humans and in mouse isolated single muscle fibres. **Clin Exp Pharmacol Physiol**, v. 36, n. 3, p. 334-9, Mar 2009.

PURCHAS, R.W., et al. Cooking temperature effects on the forms of iron and levels of several other compounds in beef semitendinosus muscle. **Meat Sciences**, v. 68, p. 207 - 207, Sep 2004.

QUINN, P. J.; BOLDYREV, A. A.; FORMAZUYK, V. E. Carnosine: its properties, functions and potential therapeutic applications. **Mol Aspects Med**, v. 13, n. 5, p. 379-444, 1992.

SAHLIN, K. Muscle energetics during explosive activities and potential effects of nutrition and training. **Sports Med**, v. 44 Suppl 2, p. S167-73, Nov 2014.

SALE, C. et al. Carnosine: from exercise performance to health. **Amino Acids**, v. 44, n. 6, p. 1477-91, Jun 2013.

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

SALE, C. et al. Effect of beta-alanine plus sodium bicarbonate on high-intensity cycling capacity. **Med Sci Sports Exerc**, v. 43, n. 10, p. 1972-8, Oct 2011.

SAUERHOFER, S. et al. L-carnosine, a substrate of carnosinase-1, influences glucose metabolism. **Diabetes**, v. 56, n. 10, p. 2425-32, Oct 2007.

SAUNDERS, B. et al. Twenty-four Weeks beta-alanine Supplementation on Carnosine Content, Related Genes, and Exercise. **Med Sci Sports Exerc**, Dec 06 2016.

SAUNDERS, B. et al. Reliability of a high-intensity cycling capacity test. **J Sci Med Sport**, v. 16, n. 3, p. 286-9, May 2013.

SHINOHARA T, HARADA M, OGI K, MARUYAMA M, FUJII R, TANAKA H, et al. Identification of a G protein-coupled receptor specifically responsive to beta-alanine. *J Biol Chem*. 2004;279(22):23559–64. doi:10.1074/jbc.M314240200.

SMITH, D. E.; CLEMENCON, B.; HEDIGER, M. A. Proton-coupled oligopeptide transporter family SLC15: physiological, pharmacological and pathological implications. **Mol Aspects Med**, v. 34, n. 2-3, p. 323-36, Apr-Jun 2013.

SMITH, E. C. The buffering of muscle in rigor; protein, phosphate and carnosine. **J Physiol**, v. 92, n. 3, p. 336-43, Apr 14 1938.

SNYDER, S. H. Brain peptides as neurotransmitters. **Science**, v. 209, n. 4460, p. 976-83, Aug 29 1980.

SOLIS, M. Y. et al. Effects of beta-alanine supplementation on brain homocarnosine/carnosine signal and cognitive function: an exploratory study. **PLoS One**, v. 10, n. 4, p. e0123857, 2015.

SAUNDERS, B. D. S. P. V.; OLIVEIRA, L.; DA EIRA SILVA, V.; DA SILVA, R. P.; RIANI, L.; FRANCHI, M.; DE SOUZA GONÇALVES, L.; HARRIS, R. G.; ROSCHEL, H.; ARTIOLI, G.G.; SALE, C.; GUALANO, B. Twenty-four Weeks β -alanine Supplementation on Carnosine Content, Related Genes, and Exercise. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. in press, 2016.

STELLINGWERFF, T. et al. Effect of two beta-alanine dosing protocols on muscle carnosine synthesis and washout. **Amino Acids**, v. 42, n. 6, p. 2461-72, Jun 2012.

STELLINGWERFF, T. et al. Optimizing human in vivo dosing and delivery of beta-alanine supplements for muscle carnosine synthesis. **Amino Acids**, v. 43, n. 1, p. 57-65, Jul 2012.

STIPANUK, M. H. Leucine and protein synthesis: mTOR and beyond. **Nutr Rev**, v. 65, n. 3, p. 122-9, Mar 2007.

TALLON M.J. et al. The carnosine content of vastus lateralis is elevated in resistance-trained bodybuilders. **J Strength Cond Res** 19:725–729, 2005.

TEUFEL, M. et al. Sequence identification and characterization of human carnosinase and a closely related non-specific dipeptidase. **J Biol Chem**, v. 278, n. 8, p. 6521-31, Feb 21 2003.

TIEDJE, K.E. et al. β -alanine as a small molecule neurotransmitter. **Neurochemistry International**, v.57, p. 177-188, 2010.

TOBIAS, G. et al. Additive effects of beta-alanine and sodium bicarbonate on upper-body intermittent performance. **Amino Acids**, v. 45, n. 2, p. 309-17, Aug 2013.

TREXLER, E.T. et al. International Society of Sports Nutrition position stand: beta-alanine. **Journal of the International Society of Sports Nutrition**, v.12, n.30, 2015.

VISTOLI, G. et al. Predicting the physicochemical profile of diastereoisomeric histidine-containing dipeptides by property space analysis. **Chirality**, v. 24, n. 7, p. 566-76, Jul 2012.

VOGEL, R. M. et al. Safety of a dose-escalated pre-workout supplement in recreationally active females. **J Int Soc Sports Nutr**, v. 12, p. 12, 2015.

WANG, M. et al. Comparative analysis of vertebrate PEPT1 and PEPT2 genes. **Genetica**, v. 138, n. 6, p. 587-99, Jun 2010.

WESTERBLAD, H. Acidosis Is Not a Significant Cause of Skeletal Muscle Fatigue. **Med Sci Sports Exerc**, v. 48, n. 11, p. 2339-2342, Nov 2016.

YAMASHITA, T. et al. Cloning and functional expression of a brain peptide/histidine transporter. **J Biol Chem**, v. 272, n. 15, p. 10205-11, Apr 11 1997.

ZHAO, D.; LU, K. Substrates of the human oligopeptide transporter hPEPT2. **Biosci Trends**, v. 9, n. 4, p. 207-13, Aug 2015.

ZIERATH, J. R.; HAWLEY, J. A. Skeletal muscle fiber type: influence on contractile and metabolic properties. **PLoS Biol**, v. 2, n. 10, p. e348, Oct 2004.