Lísia de Melo Pires Kiehl

**Efeito da suplementação aguda de glutamina
peptídeo e carboidrato em jogadores de futebol
juniores : análise de parâmetros nutricionais,
desempenho físico e bioquímicos**

**Tese apresentada à Faculdade de Medicina
da Universidade de São Paulo para obtenção
do título de Doutor em Ciências**

Área de concentração: Emergências Clínicas

Orientador: Dr. Heraldo Possolo de Souza

Co-orientador: Prof. Dr. Rui Curi

São Paulo

2007

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Kiehl, Lísia de Melo Pires

Efeito da suplementação aguda de glutamina peptídeo e carboidrato em jogadores de futebol juniores : análise de parâmetros nutricionais, desempenho físico e bioquímicos / Lísia de Melo Pires Kiehl. -- São Paulo, 2007.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.
Departamento de Clínica Médica.

Área de concentração: Emergências Clínicas.

Orientador: Heraldo Possolo de Souza.

Co-orientador: Rui Curi.

Descritores: 1.Glutamina 2.Futebol 3.Aptidão física 4.Avaliação nutricional
5.Avaliação 6.Bioquímica

USP/FM/SBD-119/07

Ao meu amado marido, **Marcos Kiehl**,
pois, sem seu apoio,
a concretização deste sonho não seria possível.

A Deus,

pelo milagre fantástico da vida.

À minha mãe,

Ao meu pai, em memória

Que construíram em mim a crença de que sonhos podem ser conquistados.

Agradecimentos

Prof. Dr. Heraldo Possolo de Souza, quem acreditou, apoiou, mostrou os caminhos para que eu pudesse percorrê-los, incentivando e estimulando nos momentos mais difíceis. E acima de tudo foi o grande responsável por esta mudança tão determinante na minha vida.

Prof. Dr. Rui Curi, a quem tenho profunda admiração e respeito, que sempre foi um exemplo para mim, que mostrou caminhos para tornar possível a realização desta tese.

Profa. Dra. Tânia Pithon Curi, acima de tudo uma grande amiga a quem devoto admiração, que sempre me incentivou e acreditou neste desafio desde o momento em que ele era a penas uma especulação.

A Dra. Júlia Maria de D'Andrea Greve pela parceria entre o Laboratório dos Estudos do Movimento do Instituto de Ortopedia e Traumatologia (IOT) e o Laboratório de Investigação Médica – Emergências Clínicas (LIM 51) que tornou possível a realização dos testes de esforço máximo e consequentemente a concretização desta tese.

A Dra. Leila Antonângelo, do Laboratório Central, pela colaboração na viabilização das análises das amostras de sangue dos atletas deste estudo.

Ao amigo Paulo Roberto da Silva, que sem o apoio incontestável e inestimável colaboração na realização dos testes de esforço máximo, tornou possível a realização e prosseguimento desta tese.

A Mauro Sérgio Perilhão, amigo e preparador físico do time do Palestra São Bernardo, pois sem a sua grande colaboração na disponibilização dos jogadores não teríamos finalizado esta tese.

A grande amiga, Ana Iochabel S. Moretti, cujo apoio e inestimável colaboração na realização dos ensaios imunológicos para detecção dos produtos da peroxidação lipídica e pelo suporte sobre Biologia Molecular. E pela amizade e fidelidade demonstradas ao longo destes anos de trabalho, café e almoços.

À amiga Daniela Oxer Teixeira, pela amizade, paciência e inestimável colaboração no preparo das amostras para aplicação dos RT-PCRs.

À Denise Frediani, pela amizade e incontestável colaboração na realização dos RT-PCRs e pelo suporte teórico em biologia molecular e genética.

À Jaqueline Rosa, judoca e professora de educação física, pela amizade e dedicação na realização da avaliação antropométrica e da composição corporal dos atletas durante os testes.

Ao Leonardo Vieira, pela disponibilidade, atenção, ajuda e cujas sugestões foram fundamentais para a concretização desta tese.

À Adriana Cristina Levada-Pires, pela atenção, orientação e ajuda na realização dos ensaios para determinação de glutamato, glutamina e glutaminase no plasma dos atletas deste estudo.

Aos colegas da pós-graduação do Laboratório de Investigação Médica em Emergências Clínicas (LIM 51), pela amizade, pelo compartilhamento de alegrias e de dificuldades, e pelo suporte nos momentos mais difíceis.

Aos funcionários e técnicos do Laboratório de Investigação Médica em Emergências Clínicas (LIM 51), pela amizade, incentivo e ajuda por propiciar as condições para que este trabalho fosse realizado.

Aos colegas da pós-graduação e técnicos do Departamento de Fisiologia e Biofísica, do Instituto de Ciências Biomédicas, pela amizade, pela convivência harmoniosa, pelo compartilhamento de alegrias e pelo suporte nos momentos difíceis.

Esta tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

Referencias: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver)

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina, Serviços de Biblioteca e Documentação. Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Júlia de A. L. Freddi, Maria F, Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 2ª ed.

São Paulo: Serviço de Biblioteca e Documentação; 2005.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

Sumário

Lista de abreviaturas

Lista de tabelas

Lista de figuras

Resumo

Summary

1. INTRODUÇÃO	1
1.1 Futebol	1
1.1.1 Exigência física	1
1.1.2 Treinamento aeróbio	3
1.1.3 Força e Potência	5
1.1.4 Demanda energética e o papel do glicogênio muscular	6
1.1.5 Avaliação do desempenho no futebol	8
1.1.5.1 Lactato sanguíneo	8
1.1.5.2 Ergoespirometria	9
1.1.5.3 Treinamento aeróbio e desempenho do jogador	12
1.2 Glutamina	12
1.2.1 Glutamina e desempenho físico	16
1.2.2 Mecanismos de ação da glutamina durante o exercício físico	20
1.2.2.1 Glutamina e equilíbrio ácido-básico	20
1.2.2.2 Glutamina e glicose sanguínea	23
1.2.2.3 Glutamina e proteínas de choque térmico	26
1.2.2.4 Glutamina, proteínas de choque térmico e lesão celular	29
1.2.2.5 Glutamina, proteínas de choque térmico e estresse oxidativo	32
2. HIPÓTESE	38
3. OBJETIVOS	39
4. MÉTODOS	42
4.1 Casuística	42

4.2	Desenho do Protocolo.....	43
4.3	Avaliações.....	46
4.3.1	Avaliação Clínica	46
4.3.2	Avaliação Nutricional	46
4.3.2.1	Avaliação Antropométrica e da Composição corporal	47
4.3.2.2	Avaliação do Consumo alimentar	48
4.3.2.2.1	Inquérito de Vinte e quatro horas (24h)	49
4.3.2.2.2	Inquérito alimentar habitual.....	49
4.3.3	Avaliação do Desempenho Físico - Teste de esforço máximo (ergoespirométrico agudo)	50
4.3.3.1	Dosagem de lactato	52
4.3.4	Avaliação Bioquímica, Molecular e Celular.....	53
4.3.4.1	Coleta do Material	53
4.3.4.2	Análises Bioquímicas e Moleculares.....	54
4.3.4.2.1	pH, lactato, ânion gap	54
4.3.4.2.2	Glicemia.....	54
4.3.4.2.3	Lesão Celular - Creatinaquinase (CK) e lactato desidrogenase (DHL)	55
4.3.4.2.4	Estresse Oxidativo - Malondialdeído.....	55
4.3.4.2.4.1	Malondialdeído	55
4.3.4.2.5	Proteínas de choque térmico (heat shock proteins - HSP)	56
4.3.4.2.6	Glutamina e Glutamato no plasma	57
4.3.4.2.6.1	Determinação de glutamato.....	58
4.3.4.2.6.2	Determinação de glutamina	58
4.4	Intervenção Nutricional.....	59
4.5	Análise Estatística	60
5.	RESULTADOS	61
5.1	Caracterização dos jogadores de futebol	62
5.1.1	Antropometria	62
5.1.2	Avaliação do Consumo Alimentar.....	64
5.1.3	Avaliação do desempenho	73

5.1.4	Alterações bioquímicas, moleculares e celulares induzidas pelo teste de esforço máximo	75
5.1.4.1	Alteração do equilíbrio ácido-básico	75
5.1.4.2	Glicemia	77
5.1.4.3	Enzimas musculares	78
5.1.4.4	Estresse oxidativo	80
5.1.4.5	Glutamina e Glutamato	81
5.1.4.6	Heat-shock proteins	83
5.1.4.7	Leucócitos circulantes e diferenciais	84
5.1.4.8	Plaquetas	85
5.2	Efeitos da reposição de glutamina peptídeo	86
5.2.1	Avaliação Antropométrica	87
5.2.2	Avaliação do Consumo Alimentar	87
5.2.3	Efeito da suplementação de glutamina peptídeo no desempenho	90
5.2.4	Efeito da suplementação de glutamina peptídeo nas análises bioquímicas	91
5.2.4.1	Equilíbrio ácido-básico	91
5.2.4.2	Glicemia	93
5.2.4.3	Enzimas musculares	94
5.2.4.4	Estresse oxidativo	95
5.2.4.5	Glutamina e Glutamato	96
5.2.4.6	Análises moleculares e celulares	98
5.2.4.6.1	Expressão de HSP27	98
5.2.4.6.2	Leucócitos circulantes e diferenciais	99
5.2.4.6.3	Plaquetas	100
6.	DISCUSSÃO	101
7.	CONCLUSÕES	121
8.	ANEXOS	123
9.	REFERÊNCIAS	126
10.	APÊNDICES	

Lista de abreviaturas

ACSM	American College of Sports Medicine
ADP	Adenosina difosfato
A.G.	Ácido graxo
A.G.Mono	Ácido graxo monoinsaturado
A.G.Poli	Ácido graxo poliinsaturado
cDNA	Ácido desoxirribonucleíco complementar
Colest.	Colesterol
dATP	Desoxi-adenina-trifosfato
DH ₂ O	Água destilada
EROs	Espécies reativas do oxigênio
HSC	Heat shock protein complementar (proteínas de choque térmico complementar)
HSP	Heat shock proteins (proteínas de choque térmico)
IDR	Ingestão dietética de referência
IMC	Índice de massa corpórea
Kcal	Kilocaloria
Kg	Kilograma
FC LV ₂	Frequência cardíaca no limiar anaeróbio
FCMax	Frequência cardíaca máxima
GSH	Glutathione reduzida
GSSH	Glutathione oxidada
LacRep.	Lactato de repouso

Lac Pico	Lactato no pico do esforço
Lac Max 5 min	Lactato aos 5 minutos da recuperação
mRNA	Ácido ribonucléico mensageiro
NADH	β -nicotinamida adenina dinucleotídeo reduzida
PCR	Reação da polimerase em cadeia
RNA	Ácido ribonucléico
rpm	Rotação por minuto
RT	Transcriptase reversa
SDS	Laurilsulfato de sódio
STD	Do inglês <i>standard</i> , traduzido por padrão
TBA	Ácido tiobarbitúrico
TCA	Ácido tricloroacético
Tris	Tris (hidroximetil) aminometano
VO ₂ LV ₂	Consumo de oxigênio no limiar anaeróbio
Veloc. LV ₂	Velocidade no limiar anaeróbio
VO ₂ Max	Consumo máximo de oxigênio
Veloc.Max	Velocidade máxima

Lista de Tabelas

Tabela I - Dados antropométricos de jogadores juniores de futebol.....	62
Tabela II - Dados antropométricos dos jogadores de futebol avaliados no presente estudo e dos jogadores das seleções brasileiras de juniores e principal	64
Tabela III - Inquérito de 24h. Levantamento do consumo alimentar em calorias totais, carboidratos, proteínas e lipídios, dos atletas estudados nas 24h antes do teste, no momento A	65
Tabela IV - Inquérito de 24h. Levantamento do consumo alimentar de fibras, ácidos graxos e colesterol dos atletas estudados nas 24h antes do teste, no momento A.....	66
Tabela V - Inquérito de 24h. Levantamento do consumo alimentar de cálcio, ferro, sódio e cafeína, dos atletas estudados nas 24h antes do teste, no momento A.....	67
Tabela VI - Comparação do inquérito de 24h com os valores de referência IDR e ACSM, no momento A	68
Tabela VII - Inquérito habitual. Levantamento do consumo alimentar habitual em calorias totais, carboidratos, proteínas e lipídios, dos atletas estudados no momento A	69
Tabela VIII - Inquérito habitual. Levantamento do consumo alimentar habitual de fibras, ácidos graxos e colesterol dos atletas, no momento A....	70
Tabela IX - Inquérito habitual. Levantamento do consumo alimentar habitual de cálcio, ferro, sódio e cafeína dos atletas, no momento A	71
Tabela X - Comparação do consumo alimentar habitual com os valores de referência IDR e ACSM, no momento A	72
Tabela XI - Desempenho dos jogadores de futebol no teste de esforço máximo, no momento A: consumo de oxigênio (VO_2 e $VO_{2\text{máx}}$), Velocidade ($Km \cdot h^{-1}$), Frequência Cardíaca (bpm) e lactato, no Limiar Ventilatório Dois (LV2) e no Esforço máximo (VO_2 Pico).....	74
Tabela XII - Avaliação antropométrica dos atletas nos momentos A e B	87
Tabela XIII - Inquérito de 24h. Comparação das médias do grupo no momento A e no momento B para Kcal totais e % de carboidratos, proteínas e lipídios; fibras, ácidos graxos, cálcio, ferro e cafeína	88

Tabela XIV - Inquérito habitual. Comparação das médias do grupo no momento A e no momento B para Kcal totais e % de carboidratos, proteínas e lipídios; fibras, ácidos graxos, cálcio, ferro e sódio	89
Tabela XV - Comparação do desempenho nos testes realizados com placebo (A) e glutamina peptídeo (B)	90
Tabela XVI - Comparação do desempenho expresso pelas médias e pelo erro padrão das médias, dos atletas no momento A e B	91
Tabela XVII - Inquérito de 24h. Levantamento do consumo alimentar em Kcal totais e do % de carboidratos, proteínas e lipídios, dos atletas estudados nas 24h antes dos teste, no momento B	148
Tabela XVIII - Inquérito de 24h. Levantamento do consumo alimentar de fibras, ácidos graxos e colesterol, dos atletas estudados nas 24h antes dos teste, no momento B	149
Tabela XIX - Inquérito de 24h. Levantamento do consumo alimentar de cálcio, ferro, sódio e cafeína, dos atletas estudados nas 24h antes dos teste, no momento B	150
Tabela XX - Comparação do inquérito de 24h no momento B com os valores de referência IDR e ACSM	151
Tabela XXI - Inquérito habitual. Levantamento do consumo alimentar habitual em Kcal totais e do % de carboidratos, proteínas e lipídios, dos atletas estudados no momento B.....	152
Tabela XXII - Inquérito habitual. Levantamento do consumo alimentar habitual de fibras, ácidos graxos e colesterol dos atletas no momento B...	153
Tabela XXIII - Inquérito habitual. Levantamento do consumo alimentar habitual de cálcio, ferro e sódio dos atletas no momento B.....	154
Tabela XXIV - Comparação do consumo alimentar habitual (inquérito habitual) com os valores de referência IDR e ACSM, no momento B.....	155

Lista de Figuras

Figura 1 - Bioquímica do metabolismo da glutamina (principais vias e enzimas chave): ① glutamato desidrogenase, ② glutamato oxolacetato transaminase, ③ glutamina sintetase, ④ glutaminase, e ⑤ glutaminase semialdeído desidrogenase.	14
Figura 2 - Desenho do teste, duplo cego, cruzado, dos jogadores do estudo.....	45
Figura 3 - Valores de pH em sangue venoso medidos em teste de esforço máximo, no momento A.	76
Figura 4 - Concentração do bicarbonato em sangue venoso medidos em teste de esforço máximo em esteira, no momento A.	76
Figura 5 - Dosagem do ânion gap, em sangue venoso, medidos em teste de esforço máximo em esteira, no momento A.	77
Figura 6 - Glicemia em sangue venoso antes e após o teste de esforço máximo, no momento A.	78
Figura 7 - Concentrações séricas de CPK, antes e após teste máximo em esteira, no momento A.	79
Figura 8 - Concentrações séricas de DHL, antes e após teste máximo em esteira, no momento A.	79
Figura 9 - Concentrações plasmáticas de MDA, antes e após teste de esforço máximo, no momento A.	80
Figura 10 - Concentrações plasmáticas de glutamina, antes e após teste máximo em esteira, no momento A.	82
Figura 11 - Concentrações plasmáticas de glutamato, antes e após teste máximo em esteira, no momento A.	82
Figura 12 - Expressão de HSP27, dosada no plasma, antes e após teste máximo em esteira, no momento A.	83
Figura 13 - Leucócitos circulantes e diferencial, antes e após teste máximo em esteira, no momento A.	84
Figura 14 - Plaquetas, antes e após teste máximo em esteira, no momento A.	85

Figura 15 - Comparação das diferenças de pH em atletas suplementados com placebo (A) ou glutamina peptídeo (B).	92
Figura 16 - Comparação das diferenças de bicarbonato sérico, em atletas suplementados com placebo (A) ou glutamina peptídeo (B).	92
Figura 17 - Comparação das diferenças de ânion gap, em atletas suplementados com placebo (A) ou glutamina peptídeo (B).	93
Figura 18 - Comparação das diferenças na glicemia antes e após o teste de esforço máximo, quando os atletas receberam placebo (A) ou glutamina peptídeo (B) imediatamente antes do teste.	93
Figura 19 A e B - Comparação das diferenças na concentração plasmática da enzima muscular CPK e LDH antes e após o teste de esforço máximo, quando os atletas receberam placebo (A) ou glutamina peptídeo (B) imediatamente antes do teste.	94
Figura 20 - Comparação das diferenças na concentração plasmática de MDA antes e após o teste de esforço máximo, quando os atletas receberam placebo (A) ou glutamina peptídeo (B) imediatamente antes do teste.	95
Figura 21 - Comparação das diferenças na concentração plasmática de glutamina antes e após o teste de esforço máximo, quando os atletas receberam placebo (A) ou glutamina peptídeo (B) imediatamente antes do teste.	97
Figura 22 - Comparação das diferenças na concentração plasmática de glutamato antes e após o teste de esforço máximo, quando os atletas receberam placebo (A) ou glutamina peptídeo (B) imediatamente antes do teste.	97
Figura 23 - Comparação das diferenças na expressão de HSP27 antes e após o teste de esforço máximo, quando os atletas receberam placebo (A) ou glutamina peptídeo (B) imediatamente antes do teste.	98
Figura 24 - Comparação das diferenças na contagem de leucócitos circulantes e diferenciais antes e após o teste de esforço máximo, quando os atletas receberam placebo (A) ou glutamina peptídeo (B) imediatamente antes do teste.	99
Figura 25 - Comparação das diferenças na contagem de plaquetas circulantes antes e após o teste de esforço máximo, quando os atletas receberam placebo (A) ou glutamina peptídeo (B) imediatamente antes do teste.	100

RESUMO

Kiehl LMP. *Efeito da suplementação aguda de glutamina peptídeo e carboidrato em jogadores de futebol juniores : análise de parâmetros nutricionais, desempenho físico e bioquímicos* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2007. 147p.

Futebol é um esporte de natureza intermitente, consistindo de séries repetidas (≤ 6 -segundos) de trabalho rápido de alta intensidade e curta duração e de períodos de recuperação de intensidade baixa a moderada (≤ 60 -segundos). O objetivo deste estudo foi caracterizar a antropometria, o consumo alimentar, o desempenho e as respostas bioquímicas, moleculares e celulares de jogadores de futebol no teste de esforço máximo e determinar se a reposição aguda de glutamina altera essas variáveis.

Quatorze jogadores de futebol (idade: 18 e 21 anos), de time profissional, representativos dos atletas dessa modalidade e faixa etária, foram avaliados. A avaliação antropométrica mostrou que esses jogadores apresentavam altura, peso e percentual de gordura, compatíveis com a idade e modalidade. A avaliação do consumo alimentar mostrou um consumo inadequado de macronutrientes e cálcio segundo IDR e ACSM. O desempenho desses atletas no teste foi dentro do esperado para atletas desta modalidade. O exercício causou acidose metabólica; aumento dos níveis plasmáticos de produtos de peroxidação lipídica, glutamina e glutamato, e aumento dos leucócitos circulantes, sem alterações na glicemia, enzimas musculares, ou proteína do choque térmico 27. A suplementação com glutamina peptídeo não proporcionou melhora no desempenho nem alterou as variáveis analisadas, após o exercício, exceto os produtos da peroxidação lipídica, que diminuíram com a suplementação. Frente aos resultados obtidos, concluiu-se que sem uma alimentação adequada para faixa etária, nível de maturação sexual e modalidade esportiva, mesmo com a prescrição correta de treinamento, a suplementação com glutamina não será capaz de proporcionar efeitos positivos no desempenho físico.

Descritores: 1. Glutamina 2. Futebol 3. Aptidão física 4. Avaliação nutricional 5. Avaliação bioquímica.

SUMMARY

Kiehl LMP. *The effect of acute glutamine peptide and carbohydrate supplementation to adolescent soccer players : Assessment of nutritional, performance and biochemical parameters* [thesis]. São Paulo: "Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo"; 2007. 147p.

Soccer is an intermittent sport in nature, consisting of repeated bouts of brief (≤ 6 -second) maximal/near-maximal work interspersed with relatively short (≤ 60 -second) moderate/low-intensity recovery periods. The aim of this study was to characterize anthropometry, food habit, performance, as well as biochemical, molecular and cellular responses of fourteen soccer players (age 18-21) to maximum exercise testing and to determine whether glutamine peptide supplementation changes these variables. The anthropometric and body composition assessment showed that the players presented height, weight and amount of body fat compatible with international sport criteria; however, body fat revealed a great variability. The dietary assessment identified an inadequate macronutrient and calcium consumption, compared to RDI e ACSM recommendations. Athlete's performance in maximum exercise testing was close to this modality average. The exercise testing induced a metabolic acidosis, with increased blood lactate levels; increased levels of glutamine and glutamate; increase in lipid peroxidation markers and in white blood cell count, while no change was detectable in blood glucose, muscle enzymes or heat shock protein 27 expression. Glutamine supplementation caused no change either in performance or in biochemical, molecular or cellular variables after aerobic exercise, except for lipid peroxidation markers, which decreased with supplementation. Therefore, it was concluded that without a healthy diet, adjusted to age and sport, glutamine supplement is not able to induce positive effects on performance.

Descriptors: 1. Glutamine 2. Soccer 3. Physical performance
4. Nutritional assessment 5. Biochemical assessment.

1. INTRODUÇÃO

1.1 Futebol

O futebol é o esporte mais popular do mundo, praticado tanto por homens como por mulheres, crianças e adolescentes (Bangsbo, 1994). Uma das razões para sua popularidade é que os praticantes não precisam ter um grau de habilidade extraordinária em nenhuma área específica (física, técnica ou tática), mas precisam possuir somente alguma disposição e aptidão, mesmo que intuitiva.

O desempenho do jogador de futebol, principalmente do profissional do esporte, depende de um conjunto de fatores como técnica, biomecânica, tática, aspectos psicológicos e emocionais, além dos aspectos nutricionais. Assim como em outras modalidades esportivas, o futebol não é uma ciência, mas a ciência pode ajudar a melhorar o desempenho dos seus jogadores. Tentativas de melhorar o desempenho no futebol infelizmente focam na técnica e na tática, à custa do desempenho físico (Stolen *et al.*, 2005).

1.1.1 Exigência física

Do ponto de vista físico, o futebol é uma modalidade esportiva que consiste em exercícios intermitentes de intensidade variável (Ekblom, 1993; Zeederberg *et al.*, 1996). A intensidade de trabalho realizado durante os 90

minutos de uma partida é, em média, próxima do limiar anaeróbio ou ventilatório dois (LV_2 ou limiar de lactato) ou 80–90% da FC_{max} . Entretanto, se expressarmos a intensidade de trabalho como uma média dos 90 minutos, perderíamos informações específicas substanciais, pois uma partida de futebol apresenta períodos e situações de atividade de alta intensidade, com acúmulo de lactato, entremeados por atividades de baixa intensidade, quando ocorre a remoção deste lactato gerado nos músculos ativos (Helgerud *et al.*, 2001).

Aproximadamente 88% de uma partida de futebol envolvem atividades aeróbias, e os 12% restantes, atividades anaeróbias de alta intensidade (Shephard *et al.*, 1987). As distâncias percorridas pelos jogadores profissionais de alto nível durante uma partida variam de 10 a 12 km, para jogadores da linha, e de aproximadamente 4 km para os goleiros. Vários estudos identificaram que as maiores distâncias são percorridas pelos meio-campistas e que jogadores profissionais percorrem maiores distâncias do que os não profissionais (Mohr *et al.*, 2003; Shephard, 1990; Whitehead, 1975). A intensidade do exercício é reduzida, assim como a distância percorrida é 5 a 10% menor no segundo tempo quando comparada ao primeiro. Durante uma partida de futebol, corridas rápidas (sprints) ocorrem aproximadamente a cada 90 segundos, cada uma durando em média de 2 a 4 segundos. Os sprints compreendem de 1% a 11% do total da distância percorrida durante uma partida, o que corresponde de 0,5% a 0,3% do tempo efetivo de jogo. Assim, durante uma partida, cada jogador realiza de 1000 a 1400 atividades curtas, que mudam a cada 4 a 6 segundos.

De 8% a 12% da distância total coberta por jogo é realizada em velocidade de corrida rápida com mudança de velocidade e direção a cada 5 segundos (Shephard, 1990). As corridas de baixa intensidade representam 35% e as de alta intensidade de 8,1% a 18% do tempo total do jogo (Bangsbo, 1991; Ekblom, 1993).

1.1.2 Treinamento aeróbio

O treinamento aeróbio tem o potencial de aperfeiçoar o desempenho do futebolista por meio do aumento na recuperação do pH e da lactatemia sanguínea das várias séries de exercício intermitente, de alta intensidade, que ocorrem durante uma partida, contribuindo para a habilidade de sustentar uma alta taxa de trabalho ao longo do jogo. A produção de energia aeróbia durante uma partida de futebol é predominante, e a intensidade média alcançada é de aproximadamente 75% do consumo máximo de oxigênio ($\text{VO}_{2\text{max}}$) e 85% da frequência cardíaca máxima. Isto corresponde a aproximadamente a $50 \text{ ml}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ para um jogador de 75 kg com $\text{VO}_{2\text{max}}$ de $65 \text{ ml}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$.

Hoff *et al.* (2001) demonstraram que o desempenho aeróbio pode ser aumentado melhorando-se a economia da corrida. A economia da corrida é a menor quantidade ou volume de oxigênio (VO_2) necessário, proporcional à massa corporal (ml/kg/min), para correr numa determinada velocidade. Hoff *et al.* estimaram que uma melhora na economia de corrida aumentaria a distância percorrida em aproximadamente 1000 m. Mais ainda, o aumento na

capacidade aeróbia foi associado com 24% mais envolvimento com a bola, assim como o número de corridas rápidas realizadas. Uma correlação significativa entre VO_2max e distância percorrida durante uma partida foi observada por Helgerud *et al.* (2001), sendo que jogadores com maiores valores de VO_2max tinham capacidade de percorrer maiores distâncias, numa maior intensidade. Neste estudo eles observaram um aumento de $11,1 \text{ km}\cdot\text{h}^{-1}$ para $13,5 \text{ km}\cdot\text{h}^{-1}$, numa faixa de 60–95% do VO_2max . Estes fatos foram comprovados em estudos anteriores que demonstraram existir uma relação significativa entre consumo máximo de oxigênio e a distância percorrida durante uma partida e o número de corridas rápidas realizadas pelo jogador.

Então a capacidade aeróbia desempenha um papel importante no futebol atual, como também influencia no desempenho técnico e nas escolhas táticas (Chamari *et al.*, 2005). A importância do condicionamento aeróbio é ilustrada pelo fato de o jogador percorrer de 10–12 km durante uma partida, numa intensidade média em torno de 75% do consumo de oxigênio máximo (VO_2max), e nesta intensidade o sistema aeróbio contribuiu com aproximadamente 90% do custo energético total da partida. Além do componente aeróbio, este deslocamento em campo é determinado pela posição do jogador no campo ou função tática exercida. Além disso, o nível do campeonato (1ª, 2ª ou 3ª divisão), também exerce influência na distância total percorrida durante o jogo. Estes dados sugerem que, dependendo da função tática que o jogador exerce no time, cada jogador terá um nível de solicitação metabólica, que por sua vez exigirá e gerará adaptações diferenciadas nos processos de produção de energia.

1.1.3 Força e Potência

Força e potência são igualmente importantes no futebol. A força máxima refere-se à maior força que pode ser realizada pelo sistema neuromuscular durante uma contração voluntária máxima, enquanto que a potência é o produto da força pela velocidade e refere-se à habilidade do sistema neuromuscular em produzir o maior impulso num determinado período de tempo.

A força máxima é uma das qualidades básicas que influencia o desempenho da potência; um aumento na força máxima está associado geralmente a uma melhora na força relativa e, entretanto, na melhora das habilidades de potência. Uma relação significativa tem sido observada entre uma repetição máxima e a aceleração e a velocidade. Este desempenho de força ou potência máxima é representado pelos testes de salto, como também por corridas rápidas de 30 m. Por meio do aumento da força de contração muscular em determinado músculo ou grupos musculares, aceleração e velocidade podem melhorar as habilidades críticas no desempenho do futebol, como giros ou dribles, corridas rápidas e mudança de passo. Alto nível de força máxima, tanto em membros superiores quanto inferiores, pode também ajudar a prevenir lesões nos jogadores. Segundo Lehnhart *et al.* (1996), a introdução do treinamento de força no esquema de treinamento pode ajudar a reduzir em 50% o número de lesões nos jogadores de futebol.

1.1.4 Demanda energética e o papel do glicogênio muscular

Os futebolistas são atletas que treinam numa intensidade que varia de moderada a alta, em função da característica fisiológica do esporte, posição em campo e o fato de ser profissional ou amador. Em função de todos estes pontos, de acordo com Clark (1994), a necessidade energética dos futebolistas varia entre 3150 e 4300 kcal por dia. Este gasto, por sua vez, varia em função da quantidade e qualidade de treinamento, tanto que um futebolista que pesa em média 75 kg gasta em média, durante um treinamento, 1360 kcal (Clark, 1994). Sendo assim, os futebolistas deveriam ingerir uma quantidade de energia suficiente para atender a demanda energética das fases de treinamento e de competição, de acordo com o requerimento nutricional do sexo e da idade. Além do requerimento de calorias e nutrientes, a dieta deveria ainda minimizar as alterações da composição corporal do futebolista, ou seja, a relação entre massa magra e massa gorda, segundo a fase de desenvolvimento. Isto é importante porque, jogadores mal alimentados e nutridos, provavelmente não irão responder ao treinamento e preparo físico, nem jogar e se recuperar para o próximo jogo de maneira satisfatória. A evidência mostra que, programas dietéticos deveriam ser direcionados para restaurar e ainda, supercompensar o nível do glicogênio muscular, para aumentar o desempenho durante as partidas, o que provavelmente beneficiaria o treino intenso, duas vezes por dia. Para isso, um programa nutricional e dietético deve, segundo recomendações atuais, promover uma ingestão estratégica de carboidrato e proteína antes e após as

sessões de treinamento e jogo para aperfeiçoar as adaptações fisiológicas da modalidade e, conseqüentemente, melhorar o desempenho e recuperação do jogador. Os trabalhos têm demonstrado que uma ingestão calórica menor do que 30 kcal por quilograma de massa livre de gordura por dia, causará desequilíbrios hormonais, metabólicos e imunes (Burke *et al.*, 2006).

O glicogênio muscular desempenha papel chave na produção de energia durante o exercício e uma das causas da fadiga está associada à depleção dos estoques de glicogênio muscular (Bangsbo, 1994; Burke, 1996; Clark, 1994; Costill *et al.*, 1992; Economos *et al.*, 1993; Parkin *et al.*, 1997).

Concentrações adequadas de glicogênio muscular minimizam ou retardam a exaustão. Os jogadores de futebol podem iniciar o jogo com baixos níveis de glicogênio muscular devido, entre outros fatores, ao hábito alimentar e ao número excessivo de jogos e treinos (Kirkendal, 1993). A depleção de glicogênio muscular depende de variáveis como: intensidade do esforço físico, condicionamento físico, modalidade do exercício, temperatura ambiente e dieta pré-exercício (Economos *et al.*, 1993).

Existe uma relação direta durante uma partida de futebol, entre as concentrações iniciais de glicogênio muscular, as distâncias percorridas e os níveis de esforços dos jogadores durante a segunda metade do jogo (Tumilty, 1993). Se o jogador estiver com uma concentração de glicogênio muito baixa, dependerá dos lipídios como substrato energético, que ele só poderá contar se o seu desempenho for realizado abaixo dos 50% do consumo de oxigênio. É importante ressaltar que um exercício intenso depleta as reservas de glicogênio muscular em 90 minutos. Em atividades

intermitentes de alta intensidade, 72% do glicogênio são usados em 95 minutos. Os jogadores que iniciam o jogo com concentrações baixas de glicogênio muscular percorrem distâncias menores, em velocidade menor, andam mais e realizam menos sprints do que aqueles jogadores com concentrações normais no início da partida (Bangsbo, 1994; Hargreaves, 1994; Leatt *et al.*, 1989; Shepard *et al.*, 1987; Zeederberg, 1996). Durante a simulação de uma partida de futebol com jogadores de elite, observou-se uma depleção de 50% do glicogênio muscular ao final da partida (Shephard *et al.*, 1987). De acordo com o nível da competição, com o condicionamento do jogador e com suas reservas corporais prévias de carboidrato, a concentração de glicogênio muscular irá diminuir proporcionalmente à duração e à intensidade do jogo (Hawley *et al.*, 1994), havendo geralmente uma depleção de 20% a 90 % do glicogênio muscular durante competições de alto nível (Shephard, 1990).

Em outras palavras, a depleção dos níveis de glicogênio comprometerá o desempenho do jogador (Kirkendal, 1993), destacando a importância de uma intervenção nutricional rica em carboidrato.

1.1.5 Avaliação do desempenho no futebol

1.1.5.1 Lactato sanguíneo

A avaliação do lactato sanguíneo submáximo é um método útil para detectar mudanças no condicionamento físico aeróbio, de modo que a determinação do limiar de lactato tende a ser um indicador mais sensível do

desempenho aeróbio do que o consumo de oxigênio (Farrel *et al.*, 1979; Ramsbottom *et al.*, 1989). Um limiar de lactato mais alto significa, teoricamente, que o jogador poderia manter uma intensidade média mais alta durante uma partida de futebol sem acumular lactato. A avaliação do lactato submáximo tem sido usada para avaliar as mudanças do componente condicionamento físico dos jogadores de futebol (McMillan *et al.*, 2005).

1.1.5.2 Ergoespirometria

A capacidade aeróbia de um jogador de futebol influi substancialmente no seu desempenho técnico e nas suas escolhas táticas. Quando se melhora a capacidade de captação de oxigênio, melhora-se também o desempenho no futebol, como maiores distâncias percorridas, maior envolvimento com a bola e maior número de sprints (McMillan *et al.*, 2005). A capacidade aeróbia é normalmente avaliada em laboratório por meio de equipamento de ergoespirometria (Chamari *et al.*, 2005), que mensura as variáveis respiratórias, metabólicas e cardiovasculares pela medida das trocas gasosas pulmonares durante o exercício e a expressão dos índices de avaliação funcional. O consumo máximo de oxigênio e o limiar anaeróbio são os principais indicadores de aptidão funcional cardiorespiratória, sendo utilizados na prática para diagnóstico e prognóstico de desempenho esportivo.

O limiar anaeróbio caracteriza o ponto limite de transição de passagem do metabolismo aeróbio para o anaeróbio, e a potência aeróbia

máxima (VO_2max) caracteriza o consumo máximo de oxigênio utilizado por unidade de tempo. Esses dois parâmetros de desempenho físico são de extrema importância porque dão ao futebolista o suporte para deslocamento físico em treinamentos e durante as competições, que associado a outros movimentos (explosivos, saltos, agilidade, destreza, tempo de reação, coordenação, etc) determina o nível de capacidade funcional do futebolista. Portanto, com a utilização da ergoespirometria podemos verificar o comportamento desses dois parâmetros de desempenho através de variáveis metabólicas e ventilatórias, fornecidas por esse método. A partir do resultado verificado pela ergoespirometria torna-se possível quantificar e orientar com maior precisão às cargas de treinamento do jogador de futebol (Filaire *et al.*, 2003; Shephard, 1999; Bunc *et al.*, 2001; Stroyer *et al.*, 2004). É importante ressaltar que essas características metabólicas verificadas de maneira crônica durante o treinamento e competição podem, em longo prazo, desencadear processos de fadiga muscular e até imunodepressão, além da lesão celular resultante dos movimentos excêntricos, entre outros, o que ao longo do tempo pode ser irreversível e comprometer a vida esportiva do atleta.

Devido ao grande desgaste fisiológico a que os jogadores estão expostos e à necessidade constante de um melhor desempenho, o emprego de vários suplementos esportivos tem sido investigado no futebol. A maior parte de trabalhos publicados na área revela que foram utilizados principalmente suplementos à base de carboidratos e creatina (Bishop, 1999; Cox *et al.*, 2002; Mujika *et al.*, 1997). Isto ilustra uma realidade comum

a todos os esportes, assim como também no futebol, que é a de se dar preferência pela utilização de um determinado suplemento em detrimento de um hábito alimentar saudável e adequado para a modalidade esportiva em questão.

Apesar de o futebol ser um esporte tão popular, poucas investigações sobre o estado nutricional e consumo alimentar de jogadores têm sido realizadas, de modo que não se sabe a influência que estes fatores poderiam exercer sobre o desempenho dos futebolistas. Hoje se sabe que a nutrição adequada e atividade física regular durante a adolescência são cruciais para um ótimo crescimento e desenvolvimento, como também para promover saúde a curto e em longo prazo. A necessidade de energia e nutrientes aumenta durante a adolescência e são maiores do que em outras fases da vida (Giovannini *et al.*, 2000; Iglesias-Gutierrez *et al.*, 2005). Atletas adolescentes têm necessidades específicas de nutrientes devido a treinamentos e competições.

Atualmente não existe informação sobre estado nutricional de futebolistas adolescentes, e os poucos trabalhos disponíveis investigaram principalmente o consumo alimentar isoladamente, às vezes associando as informações sobre consumo alimentar com a composição corporal dos futebolistas. Entretanto, investigação do estado nutricional, como levantamento antropométrico e da composição corporal, parâmetros bioquímicos, hematológicos, além do consumo alimentar e estimativa da necessidade calórica e de nutrientes para caracterizar o estado nutricional atual só foi realizada até o momento por Iglesias-Gutierrez E. *et al.* (2005).

Os trabalhos realizados sobre consumo alimentar de jogadores de futebol mostram que jogadores mais jovens apresentavam maior ingestão calórica por quilograma de massa. A quantidade ingerida de carboidratos era sempre menor do que o recomendado (45% das calorias diárias em média), independente da faixa etária, e as de lípides e proteínas tendiam a ser maiores do que a recomendação do Colégio Americano de Medicina Esportiva (ACSM), devido à baixa ingestão de carboidratos (Maughan, 1997; Iglesias-Gutierrez *et al.*, 2005; Ruiz *et al.*, 2005).

1.1.5.3 Treinamento aeróbio e desempenho do jogador

A capacidade aeróbia desempenha papel importante no futebol atual, como também influencia no desempenho técnico e nas escolhas táticas (Chamari *et al.*, 2005). A importância do bom preparo físico para os jogadores de futebol é evidenciada em estudos que mostram que jogadores de times da primeira divisão têm maiores períodos de atividades de alta intensidade do que os de divisões inferiores (Ekblom, 1993).

1.2 Glutamina

A L-glutamina (Gln) é um aminoácido não essencial e, como tal, pode ser sintetizada por todos os tecidos do organismo. Sua massa molecular é de 147,1g, e na sua composição química encontram-se: carbono (41,09%), oxigênio (32,84%), nitrogênio (19,17%) e hidrogênio (6,9%).

A glutamina está presente em muitas proteínas e é o aminoácido mais abundante no plasma e tecidos. Em humanos, a glutamina representa por volta de 20% do total de aminoácidos livres no plasma, com concentrações que variam de 0,5 a 0,9 mM. Junto com a alanina (a), representa aproximadamente 80% dos aminoácidos liberados do músculo esquelético (Curi, 2000). Apesar de não ser um aminoácido essencial, em situações especiais como trauma, septicemia, câncer e, eventualmente, no esforço físico extremo, as concentrações intracelular e plasmática deste aminoácido diminuem em até 50%. Assim, quando a demanda é maior que a produção, estabelece-se um quadro de deficiência de glutamina. Por esta razão este aminoácido foi recentemente reclassificado como “condicionalmente essencial” (Lacey, Wilmore, 1990; Neu *et al.*, 1996).

A concentração intracelular de glutamina varia entre 2 e 20 mM (dependendo da natureza da célula) e sua concentração extracelular é de aproximadamente 0,7 Mm (Curi *et al.*, 2005,b). A glutamina desempenha uma série de papéis fisiológicos importantes que incluem: (1) transferência de nitrogênio entre órgãos, (2) detoxificação da amônia e manutenção do equilíbrio ácido-básico durante a acidose, (3) precursor de nitrogênio para a síntese de purinas nucleotídeos; (4) regulação da síntese e degradação protéica (Jepson *et al.*, 1988; Parry-Billings *et al.*, 1990; Rowbottom *et al.*, 1996); (5) substrato energético para as células do sistema imune, em particular macrófagos e linfócitos, e também enterócitos. Estudos *in vitro* sugerem que a diminuição da concentração da glutamina plasmática pode afetar e comprometer o funcionamento destas células (Parry-Billings *et al.*, 1990).

Figura 1 - Bioquímica do metabolismo da glutamina (principais vias e enzimas chave): ① glutamato desidrogenase, ② glutamato oxolacetato transaminase, ③ glutamina sintetase, ④ glutaminase, e ⑤ glutaminase semialdeído desidrogenase.

O metabolismo da L-glutamina envolve duas enzimas, a glutaminase e a glutamina sintetase. Em relação a glutaminase, existem duas enzimas específicas, a glutaminase hepática e a glutaminase renal, sendo que o tipo renal pode ser encontrado no cérebro, pulmões, intestinos e músculo esquelético.

A glutaminase catalisa a hidrólise da glutamina em glutamato e íon amônio:

Já a glutamina sintetase catalisa a síntese da glutamina a partir do glutamato e amônia com gasto de ATP:

Dos estudos realizados nos últimos vinte anos, observa-se que a glutamina não apenas participa das múltiplas reações bioquímicas da célula, mas também desempenha função importante em tecidos específicos e na interação entre eles. No músculo esquelético, que contém por volta da metade dos aminoácidos livres do organismo, a glutamina representa mais de 60% do total destes. O músculo esquelético proporciona 60% da glutamina encontrada no plasma e, considerando que o músculo esquelético contribui com 40% da massa corporal total, pode-se dizer que é o maior sítio produtor de glutamina. Além disso, o músculo esquelético desempenha um

papel importante na homeostase de glutamina, pois ele fornece glutamina para o sistema imunológico, pulmões, fígado e rins. Contudo, a produção muscular não supre necessariamente a demanda fisiológica de glutamina em inúmeras condições patológicas como trauma, sepse, queimaduras, entre outras (Curi, 2000).

Existe um problema em se administrar L-glutamina, especialmente pela via parenteral e enteral, principais vias utilizadas nos primeiros estudos com suplementação de glutamina, pois a glutamina livre tem a sua solubilidade limitada a aproximadamente 3 g/100 ml (Fürst *et al.*, 1995), o que requer uma grande quantidade de água para a sua administração; além disso, a glutamina livre é instável em meio aquoso (Fürst *et al.*, 1990). Este problema pode ser vencido pela utilização de glutamina sintética, que geralmente é estável e totalmente solúvel em água (568 g/L); esta glutamina sintética contém dipeptídeos. A glutamina peptídeo é eliminada rapidamente da circulação sem se acumular nos tecidos, com perdas sem consequências na urina (Bers *et al.*, 1988; Klassen, 2000; Fürst, 2001).

1.2.1 Glutamina e desempenho físico

Durante o exercício físico ocorrem estimulação e resposta imediata do metabolismo energético no músculo esquelético por meio da contração muscular. O metabolismo de repouso aumenta 20 vezes ou mais, o que implica numa demanda energética maior, com o envolvimento e integração potencializada de todos os sistemas energéticos, com aumento da

mobilização dos substratos: carboidratos, lipídios e proteínas. Este efeito varia de acordo com a intensidade e duração do esforço físico, pois para exercício de curta duração e alta intensidade, a via metabólica predominante é a via glicolítica, com produção de ácido láctico; para exercícios de longa duração e intensidade leve ou moderada, são também utilizados, além do carboidrato, ácidos graxos e aminoácidos.

O metabolismo dos aminoácidos, em particular, tem despertado o interesse não apenas pelo seu papel como substrato oxidativo, mas pelo fato de alguns deles, como é o caso da glutamina, ter a capacidade de proporcionar a interação do tecido muscular com o tecido renal, hepático, nervoso e linfóide (Ardawi *et al.*, 1991; Curi, 2000). Entretanto, a maior parte dos trabalhos atualmente publicados sobre a suplementação de glutamina e exercício físico abordam principalmente a relação da glutamina com o sistema imune, principalmente em esportes de resistência, dos quais se destaca a maratona. Parte destes estudos também investiga a influencia exercida pela suplementação de aminoácidos de cadeia ramificada na síntese de glutamina durante o exercício, e/ou, a influência da disponibilidade de glicogênio e carboidrato na síntese de glutamina, e assim por diante. Em relação à disponibilidade de carboidrato e glutamina, Mitchell *et al.* (1998) realizaram um protocolo com o intuito de observar o efeito do *status* de carboidrato (CHO) na resposta imune depois de um exercício de longa duração. Os dados indicaram que a reposição de carboidratos no exercício alterou o número de leucócitos circulantes, mas não afetou a diminuição na proliferação linfocitária que ocorreu após o

exercício (Mitchell *et al.*, 1998). Esses dados sugerem que a disponibilidade de carboidrato preserva a função celular imune ao manter a concentração plasmática de glutamina.

Blanchard *et al.* (2001), num outro protocolo, examinaram a relação entre a glutamina e o glicogênio muscular. Os autores relataram que a concentração média de glutamina do plasma era significativamente mais elevada durante o exercício onde se consumiu dieta com 70% CHO quando comparada como a dieta de 45% CHO. O glicogênio estava diminuído pelo mesmo valor durante ambos os testes e não houve nenhuma relação entre mudanças na glutamina do plasma com a concentração do glicogênio do músculo. A concentração de glutamina do músculo não mudou em nenhum dos testes. Concluiu-se que a disponibilidade de glutamina foi influenciada pela ingestão de carboidrato e que a glutamina plasmática não tem relação com o glicogênio muscular.

O exercício prolongado está associado com a diminuição na concentração plasmática de glutamina, e tem sido sugerido que isto pode ser em parte responsável pela imunossupressão observada na síndrome do excesso de treinamento (Castell *et al.*, 1998). Castell e Newsholme (1998) investigaram o efeito da suplementação de glutamina em ultramaratonistas e maratonistas que participavam de corridas, em corredores de meia distância que participavam de corridas de 10 km e em remadores que realizaram treinamento circuitado. Os pesquisadores observaram que após uma corrida de maratona havia diminuição na concentração de glutamina plasmática na ordem de 20%, enquanto nos corredores de meia distância, a diminuição foi

de 12-15%. A incidência de infecções, relatada pelos atletas durante os sete dias de exercício, foi sensivelmente menor naqueles que receberam glutamina do que nos tratados com placebo.

O fornecimento de suplemento de glutamina pode ser benéfico na prevenção da imunossupressão após exercício prolongado. Castell *et al.* (2001) demonstraram que o consumo de suplemento de glutamina imediatamente e duas horas após uma maratona reduz a incidência de infecções do trato respiratório superior nos sete dias após a corrida. Entretanto, o exato mecanismo do efeito da glutamina na imunossupressão, nesta situação, não foi ainda estabelecido.

Bacurau *et al.* (2003) avaliaram o efeito da suplementação de carboidrato sobre alguns aspectos da função imune em ciclistas durante corrida em ambiente fechado, e concluíram que a suplementação com carboidrato afetou positivamente a resposta imune dos ciclistas, evitando ou minimizando as mudanças na concentração de glutamina plasmática.

Como previamente citado, estressores severos como queimaduras, cirurgias, sepsis, exercício prolongado e síndrome do excesso de treinamento causam diminuição significativa nas concentrações de glutamina muscular e plasmática (Curi, 2000; Newsholme *et al.*, 1997; Ohtake *et al.*, 1991). Segundo Jose e Street (1999), o fornecimento de glutamina depois de eventos estressantes mantém a concentração muscular de glutamina. Isso seria importante para manter o estado de hidratação da célula e o aumento no volume celular, o que, de acordo com Haussinger (1994),

poderia influenciar processos metabólicos dentro da célula, favorecendo o anabolismo e a síntese protéica.

Segundo Wilmore (2001), a suplementação de glutamina na nutrição intravenosa em pacientes que sofreram intervenção cirúrgica eletiva melhorou a resposta catabólica à injúria por meio da recuperação do balanço nitrogenado, além de ajudar a corrigir a diminuição de concentração de glutamina no músculo esquelético e aumentar a síntese protéica. Entretanto, em exercício, a relação da suplementação de glutamina com catabolismo protéico, e a influência dessa relação no desempenho físico não foram ainda exploradas de maneira adequada.

1.2.2 Mecanismos de ação da glutamina durante o exercício físico

1.2.2.1 Glutamina e equilíbrio ácido-básico

Entretanto, outras relações metabólicas, como a influência do estado de acidose decorrente do esgotamento dos sistemas energéticos sobre o “pool” de glutamina e, conseqüentemente, a influência sobre o desempenho de alta intensidade e de curta duração, tem sido pouco exploradas. Como se sabe, a glutaminase renal tem sua atividade catalítica potencializada pela acidose, com consumo de glutamina e produção de glutamato e íon amônio. A secreção de amônia pela célula renal representa uma maneira de o organismo se livrar dos íons hidrogênio em excesso e, assim, reverter à acidose. Além disto, o esqueleto de carbono da glutamina pode ser oxidado a CO_2 , reagindo prontamente com a água,

por ação da anidrase carbônica. O ácido carbônico gerado se dissocia em íons bicarbonato, lançados no organismo para reverter à acidose, e íons H^+ excretados na urina (Curi, 2000).

Costil *et al.* (1984) realizaram um protocolo com o intuito de avaliar o efeito da suplementação de bicarbonato em testes com ciclistas. Eles concluíram que o efeito alcalinizante da solução HCO_3 defende o conceito de que a concentração de íons hidrogênio no sangue e no músculo exerce um efeito direto no desempenho durante exercícios intermitentes, supramáximos. Entretanto, nos trabalhos realizados posteriormente, assim como também no trabalho de Haub *et al* (1998), onde se empregou L-glutamina para observar se ocorria influência no equilíbrio ácido-básico e conseqüentemente melhora do exercício de alta intensidade, não se observou nenhum dos efeitos esperados, ou seja, aumento do potencial tampão e aumento do desempenho de alta intensidade em homens treinados.

Walsh *et al.* (1998), realizaram um protocolo que teve como objetivo investigar os efeitos do exercício de alta intensidade e intermitente sobre as concentrações plasmáticas de glutamina e ácidos orgânicos (lactato, ácidos graxos livres e β -hidroxibutirato), assim como o número de leucócitos. Os resultados mostraram que a concentração de lactato plasmático foi significativamente maior nos 5 minutos após o exercício do que no pré-exercício ($8,8 \times 1,2$ mM), e caiu para 1,8 mM 1h após o exercício. Os ácidos graxos livres e o β -hidroxibutirato aumentaram significativamente durante o período de pós-exercício. A contagem de leucócitos circulantes aumentou significativamente durante o exercício e continuou a aumentar no pós-

exercício, atingindo um pico às 2,5h após o término do teste. A concentração de amônia plasmática foi significativamente maior aos 5 minutos pós-exercício do que durante o pré-exercício. A concentração de glutamina não se alterou durante o exercício, mas foi 16% menor nas 5h pós-exercício. Esta queda não tem relação com a alteração no volume plasmático e não foi consequência da ingestão da solução de carboidrato. Os autores acreditam que a queda na concentração de glutamina plasmática possa ser uma consequência da captação renal de glutamina, pois na acidose os rins captam glutamina para tamponar a acidose pós-exercício e a concentração plasmática de glutamina é mantida por meio da liberação deste aminoácido de outros reservatórios, provavelmente do músculo esquelético e do fígado, respectivamente. Entretanto, a baixa concentração de glutamina plasmática observada 5h após o exercício pode ser consequência da depleção dos reservatórios ou, mais provavelmente, de uma taxa de liberação muscular menor do que a captação renal. De qualquer forma, não é possível saber se esta relação entre acidose e concentração de glutamina observada por Walsh pode ser uma das variáveis responsáveis pela queda da qualidade do desempenho num esporte como o futebol, ou seja, se pode interferir positivamente no limiar de lactato.

Hortelano *et al.* (1984) já tinham observado em ratos submetidos a exercício em água, a ocorrência de acidose aguda. Cortes de córtex renal dos ratos mostraram aumento tanto da amoniogênese quanto da gliconeogênese a partir da glutamina. Além disso, o plasma dos ratos normais, quando exercitados, também estimularam amoniogênese no córtex

renal. Nos ratos exercitados ocorreu aumento de 200% na atividade da glutaminase renal fosfato dependente; o aumento da atividade enzimática foi obtida por meio da subtração da concentração de glutamina (1mM), enquanto que o aumento da V_{max} foi de apenas 12%. Esta ativação da glutaminase fosfato dependente em níveis de subsaturação do substrato pode indicar mudança conformacional na glutaminase fosfato dependente, desencadeada por um fator presente no plasma de ratos acidóticos por causa do exercício.

1.2.2.2 Glutamina e glicose sanguínea

Gliconeogênese, síntese de glicose a partir de precursores não glicosídicos (Exton, 1972; Gerich, 1993) proporciona aproximadamente 50% de toda a glicose liberada na circulação depois de 12 horas de jejum em humanos (Landau *et al.*, 1996). Com o jejum prolongado, torna-se crucial o fornecimento de glicose para o sistema nervoso e para a produção de energia anaeróbica, quando os estoques de glicogênio estão depletados (Gerich, 1993; McGuinness *et al.*, 1993). Em humanos, lactato, glicerol e aminoácidos fornecem quase todo o carbono transportado via circulação e incorporado à glicose plasmática (Wirthensohn *et al.*, 1986; Lacey, 1990). No estado pós-absortivo, mais glicose plasmática é convertida em lactato do que lactato convertido em glicose (Lacey, 1990; Stumvoll *et al.*, 1995), de maneira que a gliconeogênese a partir do lactato não proporciona adição do esqueleto de carbono ao “pool” de glicose. O glicerol se torna quantitativamente importante como precursor gliconeogênico somente

quando a lipólise está acelerada, como ocorre no jejum prolongado (Bortz *et al.*, 1972), e no diabetes (Nurjhan, 1992). Conseqüentemente, sob condições normais, os aminoácidos são os grandes responsáveis pela adição de carbonos ao "pool" da glicose, que não são derivados imediatos da glicose plasmática. A Gliconeogênese é essencialmente limitada ao fígado e aos rins porque outros tecidos não possuem a enzima glicose-6-fosfatase. Ambos os órgãos são comparativamente equipados com um completo conjunto de enzimas gliconeogênicas (Ohtake, 1991). Apesar de ter sido há muito reconhecido que a capacidade gliconeogênica dos rins excede a do fígado (Krebs *et al.*, 1993), até há pouco tempo os rins humanos foram considerados um contribuinte insignificante na produção de glicose no estado pós-absortivo (Castellino *et al.*, 1990; Gerich, 1993). Esta visão tradicional foi baseada na homeostase da glicose, que é o produto matemático da diferença arterio-venosa da concentração de glicose e do fluxo sanguíneo renal, que verifica nenhuma diferença significativa na concentração de glicose arterial e venosa no estado basal (Bjorkman *et al.*, 1980; Brudin *et al.*, 1994).

Kida *et al.* (1978) descobriram que a contribuição renal para a produção sistêmica de glicose em ratos era de 25%. Em animais intactos, o equilíbrio isotópico não havia sido empregado até recentemente, quando foi mostrada em cachorros uma captação renal de glicose significativa, onde se observou uma captação renal de glicose da circulação por volta de 30% em condições pós-absortivas. Uma vez que o equilíbrio renal estava dentro da faixa esperada, ou seja, próximo de zero, concluiu-se que os rins eram

responsáveis por mais de 20% da glicose que entrava no plasma no estado pós-absortivo em cachorros.

Uma relação análoga foi recentemente usada em humanos saudáveis, no estado pós-abortivo (Stumvoll *et al.*, 1999). Estes estudos mostraram, como esperado, que os rins humano simultaneamente captavam e liberavam quantidades consideráveis de glicose. A liberação renal de glicose contribuía com aproximadamente 25% de toda a glicose liberada na circulação e a captação com 20% (Stumvoll *et al.*, 1999; Stumvoll *et al.*, 1998; Stumvoll *et al.*, 1995). Estes resultados refutam então a idéia de que os rins desempenham um papel insignificante na homeostase da glicose.

Em voluntários saudáveis em estado pós-absortivo, a taxa de conversão da glutamina em glicose pelos rins foi avaliada e determinou-se que quase 80% da gliconeogênese a partir da glutamina sistêmica ocorriam nos rins, e que de 10 a 20% da produção renal de glicose eram provenientes da gliconeogênese renal (Stumvoll *et al.*, 1995; Stumvoll *et al.*, 1998). Isto evidencia a falha na captação hepática de glutamina e, conseqüentemente, o papel que este órgão desempenha na gliconeogênese. Mais ainda, as descobertas identificam a glutamina como o maior precursor renal gliconeogênico em humanos, e numerosas publicações anteriores confirmam tal dado a partir de estudos *in vitro* que empregavam tecido hepático ou hepatócitos isolados (Exton, 1972; Joseph *et al.*, 1978) e peças de córtex renal (Exton, 1972; Krebs *et al.*, 1963).

1.2.2.3 Glutamina e proteínas de choque térmico

O exercício físico pode também estimular a síntese das proteínas de choque térmico (heat shock proteins-HSP). As HSP são uma classe de proteínas altamente conservadas e podem ser agrupadas em famílias: HSP-27, HSP-47, HSP-60, HSP-70, HSP-90 e HSP-110, de acordo com suas seqüências de aminoácidos e com suas massas moleculares (em kD) (Jaatela *et al.*, 1992; Morimoto *et al.*, 1994). Em cada família há diferentes proteínas, por exemplo HSP-72 e HSP-73 no grupo HSP-70 e assim por diante; sendo que as massas moleculares são similares, mas os padrões de indução e expressão são distintos. Diversos tipos de estresse metabólico, como exposição ao calor e a metais pesados, entre outros, são capazes de induzir a síntese destas proteínas. O principal mecanismo de ação das HSP, mediante ao qual conferem proteção, seria o de atuarem como "chaperonas" moleculares (Feige, 1994). A palavra "chaperona", inexistente em português, serve para designar substâncias que, sem fazer parte da estrutura final de proteínas, evitam interações incorretas entre estas e auxiliam na montagem final das mesmas, bem como em sua síntese, dobramento e degradação (Ellis, 1987). O dobramento de proteínas é um processo muito importante, pois converte cadeias lineares de polipeptídeos em estruturas tridimensionais, as quais possibilitam que as proteínas exerçam todas as suas atividades vitais (Ellis *et al.*, 1996). As proteínas funcionais intracelulares estão normalmente presentes em suas formas nativas, completamente dobradas. Entretanto, processos vitais da biogênese protéica, tais como a sua síntese e transmigração (translocation, em inglês)

para os compartimentos intracelulares, requerem que a proteína exista, temporariamente, em conformação desdobrada ou parcialmente dobrada. Quando os polipeptídios se encontram com sua conformação nativa, regiões ocultas destes polipeptídios ficam expostas e podem interagir com outras proteínas, causando agregação nociva para a célula.

A exposição anterior ao estresse subletal aumenta transitoriamente a capacidade de uma célula de suportar uma agressão subsequente. Este fenômeno desempenha papel importante entre a resposta ao choque térmico e a proteção contra a inflamação, hipóxia, estresse oxidativo, isquemia, metais pesados e análogos de aminoácidos, que por sua vez induzem a expressão dos genes HSP (Benjamin *et al.*, 1998).

A rápida indução da expressão das HSPs é realizada por meio de mecanismos de ativação transcricional e de translocação preferencial (Fehrenbach *et al.*, 2000). Membros da família HSP70 são os mais estudados e é o grupo mais abundante nas células dos eucariotas. No citosol da célula, as HSP70 se ligam aos recém sintetizados polipeptídios antes que sejam liberados do ribossomo (Beckmann *et al.*, 1990).

Fehrembach *et al.* avaliaram a influência de um exercício de resistência forte e do treinamento em doze atletas e em doze controles destreinados (antes e em 0, 3, e 24 h após uma meia maratona) na expressão das HSP27 e HSP70 de leucócitos periféricos e nos níveis de proteínas e de RNAm por meio de citometria e RT/PCR, respectivamente. Os transcritos de HSP aumentaram significativamente imediatamente após o exercício agudo acompanhado de um aumento correspondente nas

proteínas. A expressão das HSPs permaneceu elevada nas 24 h pós-exercício. Aumentos plasmáticos significativos de interleucina-8, mieloperoxidase e creatinoquinase ocorreram após o exercício. A expressão basal das HSP foi menor nos indivíduos treinados do que nos destreinados. Os citados autores observaram aumentos maiores na expressão das RNAm das HSPs após aplicação de HSP *in vitro* às amostras de sangue de repouso, além de alterações induzidas pelo exercício que ativaram as células imunocompetentes. Além do estresse térmico, outros agentes de estresse associado ao exercício foram encontrados (oxidantes, citocinas) e podem ter participado na estimulação da expressão das HSP em leucócitos. O modelo de expressão das HSP devido ao treinamento pode ter sido atribuído a mecanismos adaptativos (Fehrembach *et al*, 2000).

Em um outro estudo, Fehrembach *et al.* (2000) investigaram pela primeira vez a expressão diferencial das: HSP27, HSP60, HSP70, HSC70 e HSP90 em subpopulações de leucócitos humanos circulantes (linfócitos, monócitos, e granulócitos) de corredores de meia-maratona antes e em diferentes momentos após a competição. A expressão das HSP no sangue dos atletas treinados em repouso foi comparada com a de indivíduos não treinados e analisada como o intuito de se investigar a influência do treinamento regular na expressão das HSPs em células imunocompetentes. Os resultados revelaram que o exercício estimulou a síntese das HSPs nos atletas e também a ativação das células imunocompetentes. A ativação das células imunocompetentes foi em parte causada pelo aumento dos hormônios catabólicos, que parecem estimular a produção de citocinas e

espécies reativas do oxigênio (EROs) em termos de resposta inflamatória. Entre as HSPs analisadas, o aumento mais significativo foi observado na expressão da HSP70 em monócitos e granulócitos, os quais permaneceram elevados no dia seguinte após a corrida. Os autores acreditam que o aumento da temperatura central para 44°C após a maratona foi capaz de denaturar proteínas dentro da célula, o que possivelmente induziu a síntese da HSP70 via feedback positivo. Entretanto, eles concluíram que, além da hipertermia, outros fatores de estresse, como produção de EROs e reações inflamatórias, deveriam ser considerados como possíveis e integrados mecanismos causais. O baixo percentual de leucócitos HSP-positivos nos indivíduos treinados, em repouso, pode ser um reflexo de uma reduzida necessidade das células imunes em expressar HSP nas células sanguíneas como resultado da adaptação ao treinamento de resistência regular.

Por sua vez, Thompson HP *et al.* (2003) identificaram uma relação entre expressão das HSP e treinamento de força, ou seja, verificaram aumento na expressão das HSP27, HSP e HSC70 apenas na recuperação de exercício de força, sugerindo que estas moléculas sejam importantes na adaptação em longo prazo induzida pela hipertrofia.

1.2.2.4 Glutamina, proteínas de choque térmico e lesão celular

O aumento na expressão das HSP em resposta ao exercício agudo está bem documentado em estudos com animais, e existem evidências crescentes de que respostas similares ocorram com humanos.

O treinamento de força, com predominância de movimentos excêntricos, pode induzir ao aumento na expressão da HSP no músculo devido à grande susceptibilidade de lesão de proteínas. O exercício intenso resulta em lesões musculares, que variam de acordo com o tipo de exercício. Exercícios aeróbios ou de resistência promovem menores índices de lesões musculares do que exercícios de força que envolve contração excêntrica (Clarkson *et al.*, 1988). Thompson *et al.* (2001) avaliaram mudanças nas HSPs (HSP27, HSC/HSP70) no músculo bíceps braquial após lesões induzidas por exercício de força excêntrico. Amostras de tecido para biópsia foram extraídas 48 horas pós-exercício e foram analisadas via imunoblotting para HSC/HSP70 e HSP27. Os resultados mostraram que o nível de actina não mudou no controle e nem nos exercitados, e as análises densitométricas revelaram aumento de 1064% das HSC/HSP70 no músculo exercitado, enquanto que para a HSP27 o aumento foi de 234%. Esta foi a primeira evidência do aumento na expressão de ambas as proteínas HSC/HSP70 e HSP27 no músculo esquelético humano em resposta a uma única série de exercício de força. Febbraio *et al.* examinaram o efeito na expressão de RNAm HSP72 no músculo esquelético de 5 indivíduos saudáveis que pedalarão até a exaustão numa carga de trabalho que correspondia a 63% do VO₂máx de Pico. Amostras de tecido do músculo vasto lateral e temperatura foram colhidas aos 10 min de exercício, aos 40 min antes da fadiga e em fadiga. Eles observaram que a expressão gênica da HSP72 aumentava progressivamente no músculo esquelético durante o exercício prolongado e exaustivo, e concluíram que durante o ciclismo agudo

a expressão da RNAm HSP72 aumentava em função de processos que ocorrem durante o exercício excêntrico e que são capazes de iniciar uma resposta ao estresse; verificaram também que o aumento da temperatura não é o único fator durante o exercício que pode induzir a expressão das HSP. As amostras de tecido foram analisadas para a expressão da RNAm da HSP72, como também a concentração de glicogênio e lactato. Os pesquisadores detectaram aumento na temperatura muscular durante os primeiros 10 min de exercício, a qual permaneceu então constante até o final do mesmo. De maneira similar, os autores detectaram aumento na concentração de lactato aos 10 min de exercício em relação à situação de repouso (R) e, após este período, diminuição na concentração dessa substância. Essa concentração aos 40 min e na fadiga (F) não foi diferente da observada em repouso. Já a concentração de glicogênio diminuiu progressivamente durante a realização do exercício (486 ± 74 vs. 25 ± 7 mmol/kg peso seco para R e F, respectivamente). O RNAm HSP72 foi detectado no repouso e não aumentou por 10 min. Entretanto, foi detectado aumento na RNAm de 2.2 ± 0.5 - e $2,6 \pm 0.9$ -vezes, respectivamente aos 40 min e na fadiga, quando esses valores foram comparados aos obtidos em repouso. Os autores demonstraram que o RNAm HSP72 aumenta progressivamente durante o ciclismo agudo, sugerindo que este processo que ocorre durante o exercício excêntrico é capaz de iniciar uma resposta ao estresse. Gjovaag *et al.* (2006) investigaram a resposta das HSP em doze homens treinados, que realizaram doze semanas de treinamento de alta intensidade; verificaram também se esta resposta era influenciada pela

modalidade do exercício (contrações excêntricas ou concêntricas). Comparados com os níveis pré-exercício, os níveis da expressão das HSP72 diminuíram 46,1% depois das contrações concêntricas. A expressão da GRP75 não mudou nem após contrações excêntricas ou concêntricas, enquanto que a expressão da ubiquitina diminuiu 19,9% após as contrações excêntricas. Os autores concluíram que o exercício intenso e crônico pode atenuar a expressão das HSP em indivíduos bem treinados).

1.2.2.5 Glutamina, proteínas de choque térmico e estresse oxidativo

O exercício físico pode aumentar o estresse oxidativo e causar desequilíbrio na homeostase. O treinamento pode exercer efeitos positivos ou negativos, dependendo da carga de trabalho envolvida, da especificidade do treinamento e do nível basal de treinamento do indivíduo. Mais ainda, o estresse oxidativo parece estar envolvido na fadiga muscular e pode levar à síndrome do excesso de treinamento.

Algumas pesquisas têm indicado o estresse oxidativo como um dos indutores da iniciação da síntese das HSP no fígado, nos pulmões, no cérebro e no baço de ratos cuja dieta foi suplementada com antioxidantes. A formação de oxiradicais parece ser consequência inevitável do metabolismo mitocondrial, e o exercício aeróbio podem aumentar a produção de tais espécies reativas devido ao aumento do fluxo de oxigênio através do sistema energético oxidativo associado com temperaturas elevadas durante o exercício. Em ambas as situações, o estresse oxidativo intracelular estaria aumentado e poderia contribuir para a indução da expressão das HSP.

Vários trabalhos defendem o fato de que a HSP72 funciona como proteção complementar quando o sistema de defesa antioxidante não pode combater eficientemente as espécies reativas do oxigênio. Sabendo-se do potencial deletério das espécies reativas do oxigênio na indução de lesões das proteínas contrácteis durante séries repetidas de exercício, Smolka *et al.* (2000) avaliaram o papel da proteção complementar da HSP72 ao sistema antioxidante contra o estresse oxidativo induzido pelo exercício intermitente e contínuo, no músculo soleus de ratos. Os autores descobriram que o treinamento intermitente, quando comparado ao contínuo, resulta num maior aumento da capacidade oxidativa e induz a um menor aumento na atividade antioxidante das enzimas catalase e glutathione redutase. Os resultados sugerem que os animais expostos a treinamento intermitente podem ser mais vulneráveis ao estresse oxidativo. Finalmente, depois do exercício agudo, a indução da expressão das HSP72 ocorreu somente no grupo dos sedentários, sugerindo que as HSP72 agem como um mecanismo de proteção complementar ao estresse oxidativo induzido pelo exercício.

Muitos pesquisadores têm observado que a glutamina pode aumentar a expressão das HSP *in vitro* e melhorar a sobrevivência celular contra uma grande variedade de estímulos de estresse. A expressão das HSP tornou-se um grande interesse clínico, uma vez que as HSP foram detectadas em várias situações clínicas como na isquemia-reperfusão e no choque. Além disso, um aumento na expressão das HSP representa um mecanismo citoprotetor de acordo com modelos experimentais, tais como a sepsis, doença pulmonar, rejeição a transplantes, e isquemia-reperfusão cardíaca. A expressão das

HSP também atenua a concentração plasmática das citocinas pro-inflamatórias, como a interleucina-1 β e fator de necrose tumor α (TNF- α) em modelos *in vitro* e *in vivo* (Chu *et al.*, 1997; Schmidt *et al.*, 1988). Esta atenuação parece estar relacionada com uma melhora na sobrevivência celular contra o insulto séptico (Chu *et al.*, 1997). Wischmeyer P.E. (2002) realizou estudo que teve por objetivo elucidar o papel da glutamina na expressão das HSP, investigando o mecanismo pelo qual a glutamina proporcionaria proteção às células intestinais contra o aquecimento letal e lesão oxidativa. O autor observou que a glutamina poderia aumentar a expressão HSP72 em células epiteliais de linhagem 18 (células IEC-18) antes de submetê-las a estresse, e que esse efeito tinha relação direta com a concentração de glutamina injetada. Concluiu que a glutamina pode proferir proteção significativa às células intestinais contra o estresse oxidativo e lesões letais induzidas pelo hiperaquecimento, e que este é um mecanismo importante no aumento da expressão das HSP72 nas células intestinais de linhagem 6 (IEC-6 cells); concluiu ainda que a glutamina tem um papel protetor máximo numa concentração próxima de 8 mM/L.

Baseando-se nos resultados anteriores, Wischmeyer *et al.* (2001) investigaram também se uma única dose de glutamina intravenosa poderia causar aumento rápido e significativo na expressão da HSP25 e HSP72 em múltiplos órgãos de rato Sprague-Dawley não estressados. Utilizando o modelo de ressuscitação-fluídica em ratos em endotoxemia, a mortalidade foi acentuadamente reduzida com a administração concomitante de glutamina e endotoxina. Os animais tratados com endotoxina que receberam glutamina

exibiram aumento acentuado na expressão de HSP nos tecidos e uma redução significativa da lesão em múltiplos órgãos como o coração, pulmões, fígado, rins e cólon. Os autores sugeriram então que a glutamina pode proteger contra a mortalidade e atenuar as lesões decorrentes de choque endotoxêmico nos órgãos via aumento da expressão das HSP, e que a glutamina confere proteção quando administrada no início da sepsis, ao contrário de que quando é administrada como pré-tratamento. Estes estudos também mostraram que a glutamina não desencadeou nenhum sinal clínico de intoxicação e não ocorreu aumento significativo de glutamina, amônio e glutamato. Dando seguimento aos estudos com animais, Wischmeyer *et al.* mostraram que a glutamina pode atenuar diretamente a liberação de citocinas inflamatórias nas células mononucleares no sangue periférico, e que essa atenuação ocorre concomitantemente ao aumento expressivo da HSP72. Isto indica que a glutamina pode agir diretamente nas células imunes para atenuar a liberação de citocinas inflamatórias, e esse efeito pode ser mediado pelo aumento da expressão das HSP (Wischmeyer, 2002). Sabendo-se que a glutamina desempenha papel fundamental na expressão das proteínas de choque térmico, e que estas proporcionam proteção contra uma série de estressores como: concentrações aumentadas de cálcio, espécies reativas do oxigênio, proteínas com conformação anormal ou proteínas degradadas (Welch, 1992) e células pró-inflamatórias (Ciocca *et al.*, 1993) e que muitas destas mudanças são observadas nas células do músculo esquelético depois de contrações repetidas (Tidbl, 1995). No futebol, dependendo da posição do jogador e, conseqüentemente, do tipo de

metabolismo energético envolvido, o treinamento pode induzir a produção de espécies reativas de oxigênio, como também de proteínas de choque térmico. Desta forma, faz-se necessário investigar se a relação entre glutamina e proteínas de choque térmico sofreria alguma influência de suplementação associada de glutamina e carboidratos, no sentido de promover efeito protetor sobre a célula muscular, prevenindo ou regenerando a destruição de células ou tecido muscular decorrente de treinamento.

Para comprovar se a suplementação de glutamina peptídeo com carboidrato é capaz de induzir aumento na expressão das proteínas de choque térmico, é pertinente realizar a dosagem sanguínea de creatinoquinase (CK), pH e lactato, para verificar a ocorrência de lesão muscular e presença de ácidos orgânicos; assim como ácidos graxos livres, hidroxibutirato e isoprostanos, para verificar a ocorrência de estresse oxidativo; os níveis de glutamato, glutamina e das proteínas de choque térmico (HSP) além das variáveis de desempenho submáximas e máximas (VO₂ e VO₂máx) em jogadores de futebol.

A glutamina desempenha papel importante na proteção celular, como:

1. indução da expressão das proteínas de choque térmico quando o corpo é exposto a temperaturas elevadas, como é observado no esforço físico, de intensidade e duração variadas,
2. indução da expressão das HSP72 como um mecanismo de proteção complementar ao estresse oxidativo induzido pelo exercício;
3. indução de proteção ao sistema imune, uma vez que a diminuição na concentração plasmática de glutamina provocada pelo exercício compromete a funcionalidade dos linfócitos, leucócitos e

neutrófilos, aumentando a susceptibilidade de infecções no trato respiratório superior e da ocorrência da síndrome do excesso de treinamento; 4. equilíbrio ácido-básico do sangue, uma vez que a glutamina é substrato para a síntese de íon amônio, que representa uma maneira do organismo se livrar dos íons hidrogênio em excesso e assim reverter à acidose, ou por meio da oxidação do seu esqueleto carbônico a CO_2 , que reage prontamente com a água por ação da anidrase carbônica, gerando ácido carbônico que se dissocia em íons bicarbonato e que ao serem lançados na corrente sanguínea também revertem à acidose; 5. gliconeogênese, uma vez que o cetoácido da glutamina também pode ser utilizado na síntese renal de glicose, contribuindo desta maneira para a manutenção da homeostase energética no organismo.

Faz-se necessário então investigar se o fornecimento de glutamina peptídeo com carboidrato é capaz de melhorar o desempenho físico de jogadores de futebol e de que maneira isso ocorre, ou seja, por meio da indução das proteínas de choque térmico; pelo controle da acidose metabólica; pela estimulação do sistema imunológico; pela manutenção do pool de glutamina no sangue; ou pela associação de todos estes mecanismos. Por outro lado, será que variáveis como estado nutricional e treinamento poderiam influenciar a ação da glutamina no desempenho físico, a ponto de neutralizar ou aumentar o seu mecanismo de ação. Estas são algumas das questões que a presente pesquisa tenta responder.

2. HIPÓTESE

O futebol tem características peculiares no que diz respeito às exigências físicas de seus participantes, principalmente aqueles que o praticam em alto nível competitivo. Entretanto, fica claro que a capacidade técnica e tática de cada jogador está diretamente relacionada ao seu desempenho físico, notadamente ao seu treinamento aeróbio.

Apesar da popularidade do esporte em todo o mundo, as alterações metabólicas e moleculares que ocorrem no organismo de um jogador de futebol durante um exercício extenuante agudo ainda são pouco estudadas. Além disso, é amplamente difundido o uso de suplementos esportivos para melhora do desempenho de jogadores em times profissionais de futebol, sem que haja qualquer comprovação de que esses suplementos sejam capazes de exercer efeito benéfico.

A nossa hipótese é que o fornecimento de glutamina peptídeo a jogadores juniores de futebol imediatamente antes do esforço aumenta o desempenho dos jogadores quando exposto a um teste de esforço máximo.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Caracterizar atletas jogadores de futebol juniores, do ponto de vista antropométrico e nutricional e determinar seu desempenho e as respostas bioquímicas e moleculares ao esforço máximo. Em seguida, determinar se a reposição de glutamina peptídeo modifica o desempenho dos atletas ao esforço máximo e qual o mecanismo envolvido nesse efeito.

3.2 Objetivos Específicos

3.2.1 Caracterizar jogadores juniores de futebol de um time profissional, através de medidas antropométricas.

Estratégia: Jogadores profissionais juniores de futebol de um time de segunda divisão do Estado de São Paulo, representativos dessa classe de atletas foram caracterizados antropometricamente através das medidas de peso, altura e dobras cutâneas.

3.2.2 Caracterizar o estado nutricional de jogadores juniores de futebol de um time profissional, representativos dessa classe de atletas.

Estratégia: A caracterização do estado nutricional desses atletas foi feita através da análise da composição corporal e do consumo alimentar, por

meio de Inquérito alimentar habitual e inquérito de 24 horas, comparando com as recomendações do Colégio Americano de Medicina Esportiva e Ingestão Dietética Recomendada.

3.2.3 Determinar o desempenho dos jogadores juniores de futebol de um time profissional, representativos dessa classe de atletas, no esforço máximo.

Estratégia: O desempenho desses atletas foi avaliado através de teste ergoespiométrico, onde foi realizada análise quantitativa, diferencial e comparativa em condição submáxima e máxima por meio do comportamento de parâmetros ventilatórios e metabólicos no limiar anaeróbio e na $VO_2\text{max}$

3.2.4 Determinar a resposta bioquímica, molecular e celular ao esforço máximo em de jogadores juniores de futebol de um time profissional, representativos dessa classe de atletas.

Estratégia: Foram analisadas alterações que ocorrem nos atletas após exercício aeróbio agudo, representado pelo teste ergoespiométrico. Assim, foram medidas alterações:

- no equilíbrio ácido-básico, através de medidas do pH, bicarbonato e lactato séricos, ânion gap
- no metabolismo de glicose, através da glicemia
- no metabolismo de glutamina, através da dosagem de glutamina e glutamato séricos
- na lesão de células musculares, através da dosagem de creatinofosfoquinase e desidrogenase láctica séricas

- no estresse oxidativo, através da dosagem de malondialdeído sérico
- na expressão de proteína do choque térmico 27 (HSP27), relacionada à proteção celular
- nas contagens de leucócitos e plaquetas circulantes

3.2.5 Determinar se a reposição de glutamina peptídeo em jogadores juniores de futebol de um time profissional, imediatamente antes de esforço máximo modifica o desempenho desses atletas e estabelecer qual o mecanismo envolvido nessa modificação.

Estratégia: Foram repetidas as análises descritas nos Objetivos 3.2.3 e 3.2.4, com reposição de glutamina peptídeo imediatamente antes da realização do teste ergoespirométrico.

4. MÉTODOS

4.1 Casuística

Foram estudados 14 jogadores de futebol (futebolistas), todos do sexo masculino e com idade entre 18 e 20 anos. Os jogadores foram provenientes de clube federado, Palestra São Bernardo, pertencente à segunda divisão do futebol juniores do Estado de São Paulo, onde integram a equipe de juniores e participam das principais competições organizadas pela Federação Paulista de Futebol.

Foram considerados critérios de inclusão:

- 1) Atletas que se ajustarem à faixa etária de 18 a 21 anos;
- 2) Atletas engajados em programas de treinamento para futebolista de alto rendimento com no mínimo 10 horas semanais de treinamentos (físico, técnico e tático).

Foram considerados os seguintes critérios de exclusão:

- 1) Presença de doenças crônicas ou agudas, diagnosticadas previamente ou durante o exame clínico inicial;
- 2) Uso de qualquer tipo de medicação que possa interferir no resultado do estudo;
- 3) Presença de qualquer tipo de lesão músculo-esquelético no período do estudo.
- 4) Atletas que não conseguiram obter $VO_2\text{max}$ maior que 50% na avaliação inicial feita em nosso laboratório.

De acordo com o Comitê de Ética da Instituição, antes da participação na pesquisa, todos os futebolistas foram esclarecidos sobre os objetivos do estudo após leitura e assinatura do termo de consentimento.

4.2 Desenho do Protocolo

Trinta minutos antes do início do teste, foi coletado o sangue dos atletas para análise dos parâmetros anteriormente descritos.

Imediatamente após o término da coleta, os atletas foram divididos aleatoriamente em dois grupos. A distribuição foi feita pelo pesquisador responsável pela realização do teste de desempenho físico. A metodologia para divisão aleatória dos grupos foi um sorteio simples. Uma vez determinado o grupo ao qual pertencia o atleta, o seguinte foi dirigido obrigatoriamente ao outro grupo. Este procedimento não causou um viés no estudo, já que os atletas foram avaliados de maneira duplo-cego após receberem glutamina e placebo, e, portanto foram considerados como controles de si mesmos.

Após a determinação do grupo ao qual pertenciam, os atletas receberam uma solução de carboidrato a 20% de concentração (duzentos e cinquenta mililitros de água e cinquenta gramas de carboidrato em pó) e mais quatro comprimidos de hidrolisado protéico, sendo que cada comprimido continha cento e setenta e cinco miligramas (175 mg) de glutamina peptídeo, ou mais quatro comprimidos só de hidrolisado protéico,

que era o placebo. Os comprimidos placebos ou enriquecidos com glutamina peptídeo foram identificados como A e B. O farmacêutico do laboratório fornecedor dos suplementos era o único que sabia o que continha os comprimidos A e B em todos os testes realizados.

Após a ingestão da solução de carboidrato com os comprimidos, os futebolistas esperaram aproximadamente 30 minutos e a partir de então foram submetidos ao teste ergoespirométrico agudo utilizando o protocolo escalonado contínuo de Heck modificado (Heck *et al.*, 1985). Logo após o término do teste, o sangue dos atletas foi coletado novamente para que os parâmetros bioquímicos antes e após o teste pudessem ser comparados. Os atletas que apresentaram um $\text{VO}_{2\text{máx}}$ menor que 50% foram excluídos do teste, não completando, assim, a segunda coleta, nem o segundo teste, 15 dias após.

Os atletas que atenderam aos critérios de seleção após o teste foram submetidos a um novo teste, após um intervalo de quinze dias. Eles retornaram ao Laboratório de Estudos do Movimento (LEM) do IOT – HCFMUSP e os procedimentos de coleta e protocolo de exercício descrito acima foram repetidos. A única diferença se refere ao suplemento recebido, ou seja, quem no primeiro teste foi sorteado com o suplemento A, tomou o B e vice-versa.

A seguir, um esquema simplificado da metodologia do protocolo de pesquisa.

Desenho do Protocolo Experimental:

Figura 2 - Desenho do teste, duplo cego, cruzado, dos jogadores do estudo.

4.3 Avaliações

4.3.1 Avaliação Clínica

Antes do início do protocolo experimental, os atletas foram submetidos à avaliação médica, onde, por meio de história e exame físico pôde-se detectar ou não a presença de doenças ou fatores de risco que causassem a exclusão do atleta do grupo pesquisado.

4.3.2 Avaliação Nutricional

Conjuntamente aos testes de desempenho e bioquímicos descritos a seguir, foi realizada a avaliação do estado nutricional dos jogadores de futebol em treinamento que receberam a suplementação de glutamina peptídeo ou placebo, com solução de carboidrato.

Segundo Gibson (1990) avaliação nutricional é a interpretação de informações obtidas por meio de avaliações: clínica, antropométrica, consumo alimentar e bioquímicas. Estas informações são usadas para se determinar o estado de saúde de um indivíduo ou de grupos populacionais, uma vez que o estado nutricional é influenciado pela ingestão e utilização de nutrientes pelo organismo. As informações levantadas como instrumento de avaliação do estado nutricional no presente estudo foram: exame físico, dados antropométricos (peso e estatura), composição corporal (dobras cutâneas), consumo alimentar e exames bioquímicos.

4.3.2.1 Avaliação Antropométrica e da Composição corporal

A avaliação antropométrica é usada para mensurar as partes do corpo, com o objetivo de quantificar as suas dimensões e estabelecer a proporção entre elas. O peso e a estatura são as medidas antropométricas mais usadas, tanto isoladamente quanto associadas a determinados índices (por exemplo: índice de Massa Corpórea ou IMC) para se avaliar o estado nutricional. O IMC expressa a relação entre o peso (Kg) e a estatura por metro quadrado (kg/m^2) e relaciona-se razoavelmente bem com gordura corporal total na população em geral, como também com a massa magra corporal. Geralmente é aplicada a grupos ou populações como uma avaliação inicial para identificar risco de desnutrição ou obesidade (Driskell *et al.*, 2002)

A composição corporal constitui um aspecto dinâmico dos componentes estruturais do corpo humano, sofrendo alterações durante toda a vida em decorrência de inúmeros fatores como: crescimento, desenvolvimento, estado nutricional e nível de desempenho físico (De Rose *et al.*, 1984).

Lopes e Pires Neto (1996) acreditam que, por meio da composição corporal, pode-se, além de determinar os componentes do corpo humano de forma quantitativa, utilizar os dados desta análise para detectar o grau de crescimento, desenvolvimento de crianças e jovens, o estado dos componentes corporais de adultos e idosos, o estado nutricional, bem como prescrever exercícios.

Índices da composição corporal também são usados para se identificar indivíduos vulneráveis à subnutrição ou desnutrição, e para se

monitorar mudanças longitudinais na composição corporal durante o período de treinamento físico e também a eficácia de um programa de intervenção nutricional.

Neste projeto foram levantados os dados antropométricos (peso e altura), assim como as dobras cutâneas para determinação da composição corporal. As dobras cutâneas foram obtidas por meio da tomada de três leituras, e o valor mediano foi adotado para cálculo dos percentuais de massa gorda e massa magra. O equipamento utilizado foi o adipômetro Sanny, e a equação selecionada foi à equação de Thorland (1984), de sete dobras cutâneas, específica para atletas do sexo masculino.

4.3.2.2 Avaliação do Consumo alimentar

A avaliação quantitativa da inadequação do consumo dietético requer a determinação acurada das quantidades habituais de alimentos consumidos pelo indivíduo. Deve considerar todos os alimentos que contribuem para o total de ingestão de nutrientes (Slater *et al.*, 2004). Com o intuito de se investigar a qualidade e a quantidade da ingestão de nutrientes e detectar as possíveis deficiências ou excesso de ingestão, que poderia de alguma maneira comprometer o desempenho físico e conseqüentemente a saúde dos futebolistas, foram aplicados dois métodos de avaliação do consumo alimentar: o inquérito de 24h e a inquérito habitual. Ambos os métodos de consumo alimentar foram aplicados sempre após a realização da última coleta de sangue de cada teste, sendo que cada teste ergoespiométrico foi realizado num intervalo de quinze dias. Sendo assim, cada jogador teve seu

consumo alimentar investigado quatro vezes, sendo duas vezes por teste. As informações obtidas no primeiro teste foram comparadas àquelas obtidas no segundo.

4.3.2.2.1 Inquérito de Vinte e quatro horas (24h)

O inquérito de 24h é um método utilizado para se estimar o consumo alimentar, onde o indivíduo reporta para o nutricionista todos os alimentos (sólidos e líquidos) consumidos durante as 24h anteriores. Este método permite obter estimativas de consumo alimentar mais acurada, além de se basearem na memória recente dos indivíduos, têm as respostas abertas, o que permite a obtenção de um quadro mais detalhado do consumo da população.

A coleta do inquérito de vinte e quatro horas foi realizada pelo nutricionista, sempre após a última coleta de sangue. Foram registrados, em medidas caseiras, todos os alimentos e bebidas consumidas, assim como o horário de cada refeição.

4.3.2.2.2 Inquérito alimentar habitual

O Inquérito alimentar habitual é um método utilizado para se estimar o consumo alimentar habitual do indivíduo. No presente estudo, a Inquérito alimentar habitual foi tomada pelo nutricionista após o registro do inquérito de 24h e teve por objetivo registrar os alimentos e bebidas comumente consumidas durante a semana para se comparar com o consumo alimentar realizado nas vinte e quatro horas antes de cada teste.

Para o cômputo da caloria e nutrientes ingeridos, tanto no inquérito de 24h quanto na Inquérito alimentar habitual, as medidas caseiras foram transformadas em gramas e mililitros (Soares *et al.*, 1991; Pinheiro *et al.*, 1993). O consumo alimentar foi analisado pelo software de nutrição DietPRO, desenvolvido por pesquisadores e especialistas da Universidade Federal de Viçosa, e comparado com as recomendações nutricionais do American College of Sports Medicine (ACSM) e das Referências Dietéticas de Ingestão 2002 (IDR/RDI). Além disso, foram calculados os percentuais de caloria oriundos dos carboidratos, proteínas e lipídios, bem como o total de gramas desses macronutrientes consumidos por quilograma de peso. Os valores de ingestão dos macronutrientes foram comparados com as orientações correntes para atletas do ACSM (2000), enquanto os de fibras, cálcio, ferro e sódio comparados às recomendações correntes segundo a IDR.

4.3.3 Avaliação do Desempenho Físico - Teste de esforço máximo (ergoespiométrico agudo)

O desempenho funcional dos jogadores de futebol foi verificado pela análise quantitativa, diferencial e comparativa em condição submáxima e máxima por meio do comportamento de parâmetros ventilatórios e metabólicos no limiar anaeróbio e no VO_2max .

Os testes ergoespiométricos foram realizados no Laboratório de Estudos do Movimento (LEM) do IOT – HCFMUSP, dirigida pelo Profa. Dra. Júlia Maria de D'Andrea Greve. O Dr. Paulo Roberto Santos Silva realizou

todos os testes, no analisador metabólico MedGraphics modelo CPX/D (USA) que avalia a resposta respiratória respiração-a-respiração.

Para se avaliar o desempenho individual de cada atleta, os jogadores foram submetidos ao teste ergoespirométrico agudo utilizando o protocolo escalonado contínuo de Heck modificado (Heck *et al.*, 1985). Neste protocolo, o atleta fica um minuto em repouso e faz aquecimento por três minutos nas velocidades 4,8; 6,0 e 7,2 km.h⁻¹ durante um minuto. Posteriormente, o teste é iniciado com 8,4 km.h⁻¹, aplicando-se incrementos de 1,2 km.h⁻¹ a cada 2 min até atingir a exaustão. A inclinação da esteira foi mantida fixa em 3% até o final do teste. Durante a realização do teste, o atleta recebeu encorajamento verbal com objetivo de se atingir o máximo de sua capacidade funcional (Wilmore, 1968; Moffatt *et al.*, 1994). A fase de recuperação durou quatro minutos e foi realizada com velocidades fixas em 6,0; 5,0 e 4,0 km.h⁻¹, sendo o quarto minuto com a esteira parada. A percepção subjetiva ao esforço foi verificada em cada estágio do teste pela escala linear gradual de 15 pontos (6 a 20) de Borg (Borg, 1970).

O desempenho dos jogadores foi avaliado por meio da análise dos gases expirados, sendo a análise de gases verificada pela ergoespirometria computadorizada, utilizando-se a técnica de amostragem respiração-a-respiração, que avalia a quantidade de oxigênio (O₂) consumido, resultante da diferença entre o O₂ inspirado, constante na atmosfera, e a quantidade de O₂ expirado, além da produção de dióxido de carbono (CO₂). Os gases expirados são captados e quantificados por meio de analisador eletrônico rápido do tipo zircônia para O₂ e infravermelho para CO₂ do sistema

computadorizado (modelo CPX/D do equipamento Medgraphics, EUA) (Yazbek *et al.*, 1985; Weber *et al.*, 1986; Branson, 1990; Sue, 1994; Lear *et al.*, 1999). As seguintes variáveis foram avaliadas: Ventilação Pulmonar (V_E), frequência respiratória (FR), volume corrente (VC), Volume de oxigênio (VO_2) consumido por minuto e VO_2 relativo à massa corpórea, Volume de dióxido de carbono expirado por minuto (VCO_2), Pulso de Oxigênio (PO_2), Frequência Cardíaca (FC), Equivalente Ventilatório de Oxigênio (V_{EO_2}), Equivalente Ventilatório de Dióxido de Carbono (V_{ECO_2}), Quociente Respiratório (QR), Pressão Expirada Final de Oxigênio ($PETO_2$), Pressão Expirada Final de Dióxido de Carbono ($PETCO_2$) e escala de percepção subjetiva ao esforço de Borg.

4.3.3.1 Dosagem de lactato

A concentração de lactato em repouso, no pico do esforço e no quinto minuto de recuperação do teste de esforço, foi medida utilizando aparelho portátil de procedência alemã da marca Accusport (*Boehringer Mannheim GmbH*), pesando aproximadamente 120g, com dimensões de 11,5 x 6,2 x 1,85 cm, que utiliza química seca na análise do lactato contido no sangue e tem capacidade para detectar concentrações entre 0,7 e 22 mM em apenas 60s. A calibração do aparelho foi feita antes da utilização dos testes utilizando soros controles para baixa e alta concentração de lactato. Todas as tiras reagentes eram de um mesmo lote e estavam dentro dos padrões de qualidade estabelecida pelo fabricante. A precisão e a linearidade deste equipamento foram estabelecidas pelos estudos de Gambke *et al.* 1994;

Naik *et al.* 1996; Warijch *et al.* 1996; Wigglesworth *et al.* 1996. A concentração de lactato no dedo médio dos atletas foi determinada coletando-se amostra de aproximadamente 20 a 25 ml de sangue após assepsia com álcool, desprezando-se a primeira gota para se evitar a contaminação pelo lactato secretado pelas glândulas sudoríparas (Shephard, 1992).

Princípio do Teste: a amostra de sangue, quando aplicada na zona reativa do teste, passa através da malha protetora (amarela) até a camada da fibra de vidro, onde os eritrócitos são retidos, de modo que apenas o plasma sanguíneo penetra na zona de detecção. O lactato foi determinado por meio de fotômetro de reflexão pela reação calorimétrica do medidor lactato – oxidase (Accusport, Boehringer Mannheim, Mannheim, Germany).

4.3.4 Avaliação Bioquímica, Molecular e Celular

4.3.4.1 Coleta do Material

A coleta do sangue para a realização dos exames bioquímicos e moleculares foi feita no local onde foi realizado o teste de desempenho (descritos acima), 30 minutos antes do início e imediatamente após cada teste, após a última coleta de lactato. O material foi estocado em tubos heparinizados, armazenados e transportado em gelo até o Laboratório Central do Hospital das Clínicas, da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, para a realização dos testes.

4.3.4.2 Análises Bioquímicas e Moleculares

4.3.4.2.1 pH, lactato, ânion gap

Indicam alterações no equilíbrio ácido-básico que podem modificar ou alterar o desempenho do atleta.

Foram colhidas amostras de sangue para determinação do lactato antes e após as aviações 1 e 2. O lactato foi medido pelo aparelho portátil Accusport, cuja aferição foi verificada por meio da utilização de soros controles para baixa e alta concentração de lactato antes de cada sessão de testes. A precisão e a linearidade deste equipamento foram estabelecidas pelos estudos de Gambke *et al.*, 1994; Naik *et al.*, 1996; Warijch *et al.*, 1996 e Wigglesworth *et al.*, 1996.

pH, bicarbonato e íons necessários para o cálculo do ânion gap (Na^+ , Cl^-) foram colhidos em seringa heparinizada (pH, bicarbonato) e tubo seco (Na^+ , Cl^-) e encaminhados ao Laboratório Central do Hospital das Clínicas, da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo para dosagens.

4.3.4.2.2 Glicemia

Para se determinar se a intervenção nutricional altera a concentração sérica de glicose no sangue, amostras de sangue foram colhidas dos jogadores antes e após os dois testes ergoespiométricos. A determinação foi realizada no Laboratório Central do ICHC-FMUSP, pelo método calorimétrico.

4.3.4.2.3 Lesão Celular - Creatinaquinase (CK) e lactato desidrogenase (DHL)

CK e DHL são enzimas intracelulares, cuja concentração sérica aumenta quando ocorre lesão de células musculares. A determinação dessas enzimas teve o objetivo de avaliar se a intervenção nutricional protege as células musculares.

Foram colhidas amostras de sangue dos jogadores antes e após os testes ergoespirométricos 1 e 2. A determinação foi realizada no Laboratório Central do ICHC – FMUSP, pelo método calorimétrico.

4.3.4.2.4 Estresse Oxidativo - Malondialdeído

As reações das espécies reativas do oxigênio (EROs) com os ácidos graxos poliinsaturados da membrana celular pode levar à formação de peróxidos lipídicos. Os peróxidos lipídicos abstraem íons hidrogênio do grupo metila do ácido graxo “adjacente”, formando radical ($R^\bullet$) no carbono, que é capaz de reagir com o oxigênio (O_2), numa reação em cadeia que pode levar a célula à apoptose. Entre os produtos da degradação dos ácidos graxos da membrana destacam-se os aldeídos ($ROOH$), tais como o malondialdeído e os hidrocarbonetos, como os etanos e etilenos, que são comumente mensurados como produtos finais da peroxidação lipídica.

4.3.4.2.4.1 Malondialdeído

A quantificação do malondialdeído foi utilizada para determinar a taxa de peroxidação lipídica. O plasma foi recolhido em tubos

heparinizados e centrifugado a 3000 rpm por 5 minutos. Após centrifugação, o sobrenadante (do plasma) foi coletado e acondicionado em tubos a -80°C até o momento da dosagem. A dosagem foi feita utilizando-se 100 µl de plasma, acrescidas de 100 µl SDS a 8,1%, 750 µl de ácido acético a 20%, e 750 µl de ácido tiobarbitúrico (ATB) a 0,8%. A mistura foi aquecida a 95°C por 40 minutos. A solução foi centrifugada e medida a absorbância a 532 nm no sobrenadante.

Todos os reagentes foram colocados em tubos de vidro resistentes ao calor.

	Padrão	Amostra
20% ácido acético	750µL	750µL
8.1% SDS	100µL	100µL
Homogenato/STD	0µL	100µL
DH ₂ O	400µL	300µL
0.8% ATB	750µL	750µL
Total	2000 µL	2000 µL

4.3.4.2.5 Proteínas de choque térmico (heat shock proteins - HSP)

A quantificação da HSP27 empregou o método de ensaio imunoenzimático quantitativo tipo “sanduíche”. Um anticorpo monoclonal específico para a HSP27 do rato (espécie específico) é colocado previamente em uma microplaca com 96 poços. Após o preparo, padrões, controle e amostras são pipetados nos poços. Toda HSP27 presente nos poços é, então, imediatamente capturada pelo anticorpo, formando um complexo HSP27-anticorpo monoclonal. Após lavagem da microplaca para

eliminar qualquer substância não ligada, um anticorpo policlonal, específico para a HSP27 e conjugado a uma enzima, é colocado nos poços da microplaca. O anticorpo conjugado liga-se ao complexo HSP-anticorpo monoclonal. Novamente, a microplaca é lavada para eliminar qualquer traço do reagente anticorpo-enzima não ligado ao complexo. Em seguida, é colocado nos poços um substrato, que por sua vez, reage com a enzima ligada ao complexo, formando um produto de cor azul, que se torna amarela quando uma solução de parada é colocada nos poços para interromper a reação. A intensidade da cor é proporcional à quantidade de HSP27 contida nas amostras. Os valores das amostras são medidos em leitor de microplaca com ajuste de densidade óptica para 450 nm.

4.3.4.2.6 Glutamina e Glutamato no plasma

Amostras colhidas antes e após as avaliações 1 e 2.

Após a coleta em tubo seco, o sangue foi mantido em temperatura ambiente para formar o coágulo. Imediatamente após, foi colhido o plasma e congelado em nitrogênio líquido. As amostras foram mantidas em freezer à temperatura de -80°C até o momento da análise.

As concentrações de glutamato e glutamina foram determinadas pelo método colorimétrico no Laboratório de Fisiologia Celular do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo (ICB – USP), sob responsabilidade do Prof. Dr. Rui Curi.

4.3.4.2.6.1 Determinação de glutamato

O método foi descrito por Bernt & Bergmeyer (1974) e baseia-se na formação de α -cetoglutarato a partir do glutamato, catalisada pela glutamato desidrogenase. Uma alíquota da amostra neutralizada (100 μ l) com solução Tris/KOH (Tris/aminometano 0,5M e KOH 2M) foi adicionada à solução de ensaio, que consistiu de glicina 0,5 M, hidrazina 0,4 M, NAD⁺ 7,5 μ M e ADP 10,6 mM, pH 9,0. A reação foi iniciada pela adição da glutamato desidrogenase 38 U/ml. Após 1 hora à temperatura ambiente, mediu-se a absorbância em 340nm, correspondente ao NADH formado, que é proporcional ao conteúdo de glutamato de meio.

4.3.4.2.6.2 Determinação de glutamina

O método foi descrito por Lund (1974) e baseia-se na hidrólise enzimática da glutamina pela glutaminase purificada (*E. coli* E.C. 3.5.1.2), seguida por determinação espectrofotométrica do glutamato formado. A formação de NADH é proporcional ao conteúdo de glutamato da amostra. A solução de ensaio consistiu de tampão acetato (0,5 M; pH 5,0). O meio neutralizado com solução Tris/KOH (Tris/aminometano 0,5M e KOH 2M) recebeu adição de glutaminase (0,4 U/ml). Após uma hora a 37°C, uma alíquota de 150 μ l desta solução foi retirada para a dosagem de glutamato.

4.4 Intervenção Nutricional

Para todos os atletas foram oferecidos 250 ml de solução de carboidrato a 20%.

A solução de carboidrato apresenta a seguinte composição: Maltodextrina, Frutose, Glicose desidratada, Sulfato de Potássio, Sulfato de Magnésio e Vitaminas. * Sabor Laranja: Aromatizante Natural, Ácido Cítrico e Corante Natural; * Sabor Limão: Aromatizante Natural, Ácido Cítrico e Corante Natural Clorofila; * Sabor Maracujá: Aromatizante Natural, Ácido Cítrico e Corante Natural e Artificial; * Sabor Tangerina: Aromatizante Natural, Ácido Cítrico e Corantes Naturais; * Sabor Uva: Aromatizante Natural, Corante natural e Corantes Artificiais.

No Apêndice 1 encontra-se discriminada a composição química dos nutrientes da solução de carboidrato utilizada neste protocolo, na porção de 50g.

Os atletas receberam também 4 cápsulas contendo placebo ou glutamina peptídeo (Glutimune - cada comprimido de hidrolisado protéico contém 175 mg de glutamina peptídeo). O Glutimune é um suplemento na forma de comprimido à base de hidrolisado protéico e glutamina peptídeo, produzido pelo laboratório Nutral (Fortaleza, CE – Brasil).

No Apêndice 2 encontra-se discriminada a composição do glutimune:

Fonte: NUTERAL, Pesquisa & Desenvolvimento de novos produtos, 2002.

4.5 Análise Estatística

Para análise das diferenças entre as medidas antes e após do exercício no momento A, foi utilizado o teste paramétrico t de Student, considerando um nível de significância $< 5\%$.

Para verificar se havia diferença nos resultados, foram realizadas comparações entre os deltas do momento A e B, também foi utilizado o teste paramétrico t de Student, considerando um nível de significância $< 5\%$.

5. RESULTADOS

Inicialmente, será apresentada, sequencialmente, a caracterização da amostra por meio de dados antropométricos, dos dados de consumo alimentar, do desempenho e das variáveis bioquímicas, moleculares e celulares.

Tanto os dados antropométricos, quanto os de consumo alimentar foram colhidos antes dos atletas realizarem o teste de esforço máximo, ou seja, de serem suplementados com placebo (A) ou com glutamina peptídeo (B). Entretanto, para facilitar a compreensão e as comparações dos resultados, dividimos a amostra em dois momentos, A e B, ou seja, momento em que os atletas receberam placebo (momento A), e momento em que receberam a glutamina peptídeo (momento B). Os resultados a serem exibidos a seguir, referem-se ao momento A e englobam desde a avaliação do consumo alimentar e do desempenho até das variáveis bioquímicas, moleculares e celulares.

5.1 Caracterização dos jogadores de futebol

5.1.1 Antropometria

Os jogadores foram analisados quanto à estatura, peso e composição corporal (% de gordura corporal). Os resultados estão apresentados na Tabela I.

Tabela I - Dados antropométricos de jogadores juniores de futebol

Atletas	Peso (Kg)	Estatura (cm)	IMC	% MG
ADE	64,1	187,0	23,0	3,4
BAQO	73,7	187,0	21,1	7,3
BLC	70,4	177,0	22,5	9,1
EMC	65,2	177,5	20,7	4,1
ECJ	64,7	168,0	22,9	10,3
EJSJ	77,1	176,5	24,8	14,0
FSSL	64,3	174,0	21,3	7,1
LBO	69,3	176,0	22,4	14,0
MRO	58,8	175,5	18,7	6,3
PL	71,4	178,0	22,5	6,5
RBS	76,5	178,0	24,2	5,5
TLP	61,8	175,0	20,2	5,6
TZC	60,5	163,0	22,8	6,6
WSB	64,1	167,0	23,0	5,4
Média ± EPM	67,3 ± 1,5	175,7 ± 1,7	22,1 ± 0,4	7,5 ± 0,8

Estes valores são compatíveis com os valores mensurados nos atletas convocados para a seleção brasileira de juniores que disputaram o último campeonato mundial da categoria, conforme dados obtidos no sítio oficial da Confederação Brasileira de Futebol (<http://www.cbf.com.br>) (Tabela II), sugerindo que a amostra coletada neste estudo é representativa do universo de jogadores juniores de futebol no Brasil. Para efeito de comparação, foram anotados também os dados antropométricos dos atletas da seleção brasileira que disputou a última Copa do Mundo (Alemanha 2006), obtidos no mesmo sítio (<http://www.cbf.com.br>). Obviamente, devem-se levar em consideração que os atletas avaliados neste trabalho são juniores e que ainda não atingiram a maturidade física; portanto, os dados dos atletas da seleção principal servem apenas para efeito ilustrativo e não comparativo.

Tabela II - Dados antropométricos dos jogadores de futebol avaliados no presente estudo e dos jogadores das seleções brasileiras de juniores e principal

Grupo estudado	Altura (m)	Peso (kg)	IMC (kg/m ²)
Jogadores juniores de futebol estudados nesse trabalho	1,76 ± 0,02*	67,3 ± 1,6*	22,1 ± 0,4*
Seleção brasileira de juniores que disputou o Campeonato Mundial	1,79 ± 0,01*	70,5 ± 1,3*	22,8 ± 0,3*
Seleção brasileira principal que disputou a última Copa do Mundo	1,81 ± 0,02	76,3 ± 1,4	23,3 ± 0,3

*p= não significativo, comparado com os atletas da Seleção Brasileira de Juniores. A comparação com a seleção adulta não foi realizada e os dados apresentados são meramente ilustrativos.

5.1.2 Avaliação do Consumo Alimentar

O consumo calórico, tanto do inquérito de 24h quanto do inquérito habitual, apresentou valores médios na faixa de 3929,4 a 3996,4 Kcal. É importante esclarecer que os dados de consumo alimentar colhido antes de cada teste indicaram um hábito alimentar muitas vezes em acordo com o consumo alimentar das 24h antes do teste, porém, existiu uma variabilidade muito grande, sugerindo um padrão alimentar irregular, por parte dos atletas. Além disso, tanto no inquérito de 24h quanto no inquérito habitual foi identificado uma grande variação na ingestão de calorias entre os jogadores.

Nas tabelas III e IV são apresentados os resultados de cada atleta, bem como as médias do grupo.

Tabela III - Inquérito de 24h. Levantamento do consumo alimentar em calorias totais, carboidratos, proteínas e lipídios, dos atletas estudados nas 24h antes do teste, no momento A

Atletas	Calorias	% Carboidrato	% Proteína	% Lipídio
ADE	5554,6	57,6	10,2	32,3
BAQO	2992,9	53,4	12,1	34,5
BLC	4120,5	64,5	12,0	23,5
EMC	4880,0	41,5	11,8	46,7
ECJ	3448,7	34,0	23,5	42,6
EJSJ	1201,3	65,1	11,9	23,0
FSSL	6841,9	28,6	8,1	63,3
LBO	3258,0	63,4	13,4	23,3
MRO	2755,4	62,8	11,7	25,5
PL	4235,1	67,9	10,3	21,8
RBS	2849,1	59,9	11,6	28,6
TLP	1648,7	54,1	14,7	31,2
TZC	7504,9	49,1	11,0	39,9
WSB	3721,4	41,0	19,2	39,9
Média ± EPM	3996,4 ± 478,9	53,1 ± 3,3	13,0 ± 1,1	34,0 ± 3,1

Tabela IV - Inquérito de 24h. Levantamento do consumo alimentar de fibras, ácidos graxos e colesterol dos atletas estudados nas 24h antes do teste, no momento A

Atletas	Fibras (g)	A.G.Satur. (g)	A.G.Mono (g)	A.G.Poli (g)	Colesterol (mg)
ADE	30,7	4,1	2,7	214,7	43,6
BAQO	19,6	5,2	12,9	43,8	39,5
BLC	12,6	12,9	18,5	11,5	249,1
EMC	40,7	54,5	14,0	25,9	290,2
ECJ	0,9	26,7	33,5	16,1	318,3
EJSJ	17,4	4,2	5,7	14,2	0,0
FSSL	45,3	65,1	6,1	14,8	277,0
LBO	31,3	9,1	6,6	16,4	31,3
MRO	43,7	10,9	11,4	22,8	233,6
PL	20,2	26,5	0,2	0,5	93,8
RBS	43,9	17,8	17,7	20,1	259,1
TLP	15,9	12,1	3,7	9,1	72,7
TZC	47,8	120,8	87,5	31,2	477,3
WSB	21,9	36,2	13,5	21,5	209,6
Média ± EPM	28,0± 3,9	29,0± 8,7	16,7± 5,9	33,0±14,2	185,3± 37,4

Tabela V - Inquérito de 24h. Levantamento do consumo alimentar de cálcio, ferro, sódio e cafeína, dos atletas estudados nas 24h antes do teste, no momento A

Atletas	Cálcio (mg)	Ferro (mg)	Sódio (mg)
ADE	1059,6	28,9	4146,5
BAQO	555,1	9,9	661,0
BLC	1172,3	12,7	4679,3
EMC	386,2	10,5	7186,3
ECJ	893,7	19,7	2793,3
EJSJ	370,0	3,0	3246,5
FSSL	328,0	11,4	11907,6
LBO	984,1	14,1	1703,3
MRO	166,1	5,0	3287,3
PL	1162,6	15,2	2395,3
RBS	834,6	7,1	2755,7
TLP	474,3	5,6	2396,2
TZC	1630,9	10,4	3973,1
WSB	1369,0	17,7	2685,9
Média ± EPM	813,3 ± 118,1	12,2 ± 1,8	3844,1 ± 742,0

Tabela VI - Comparação do inquérito de 24h com os valores de referência IDR e ACSM, no momento A

	Atletas	IDR		ACSM
		14-18	19-30	
Kcal	3996,4 ± 478,9			
% Carboidratos g/Kg/dia	53,1 ± 3,3 8,0	45-65	45-65	6 - 10
% Proteínas g/Kg/dia	13,0 ± 1,1 2,0	10-30*	10-35	 1,2-1,4
% Lipídios	34,0 ± 3,1	25-35	25-35	20-25
Fibras (g)	28,0 ± 3,9	38	38	
Á.G.Saturado (g)	29,0 ± 8,7			
A.G.Mono (g)	16,7 ± 5,9			
A.G.Poli (g)	33,0 ± 14,2			
Colesterol (mg)	185,3 ± 37,4	< 300	< 300	
Cálcio (mg)	813,3 ± 118,1	1300	1000	
Ferro (mg)	12,2 ± 1,8	11	8	
Sódio (mg)	3844,1±742,0	1,5	1,5	

*(4-18 anos)

Tabela VII - Inquérito habitual. Levantamento do consumo alimentar habitual em calorias totais, carboidratos, proteínas e lipídios, dos atletas estudados no momento A

Atletas	Calorias	% Carboidrato	% Proteína	% Lipídio
ADE	5724,4	70,5	11,4	18,1
BAQO	4443,1	56,8	9,7	33,6
BLC	6365,5	53,1	16,2	30,7
EMC	4454,5	35,9	11,3	52,8
ECJ	4769,8	43,5	10,8	45,7
EJSJ	840,3	53,9	16,9	29,2
FSSL	2409,5	42,2	23,3	34,4
LBO	3731,8	42,1	21,7	36,2
MRO	3680,2	50,2	11,0	38,8
PL	4883,9	51,2	14,6	34,2
RBS	2557,8	58,1	12,4	29,5
TLP	2118,3	60,3	16,2	23,5
TZC	6581,1	62,4	13,2	24,5
WSB	3389,1	44,9	14,8	40,3
Média ± EPM	3996,4±442,8	51,8 ± 2,5	14,5 ± 1,1	33,7 ± 2,4

Tabela VIII - Inquérito habitual. Levantamento do consumo alimentar habitual de fibras, ácidos graxos e colesterol dos atletas, no momento A

Atletas	Fibras (g)	A.G.Satur. (g)	A.G.Mono (g)	A.G.Polii (g)	Colesterol (mg)
ADE	84,8	19,7	6,5	16,1	129,2
BAQO	53,3	37,2	6,0	14,9	87,5
BLC	14,6	64,9	70,4	16,2	688,0
EMC	33,7	59,1	11,7	23,7	424,1
ECJ	24,0	63,7	80,4	25,4	319,5
EJSJ	17,0	4,0	5,2	10,4	42,3
FSSL	32,5	20,1	20,1	28,1	301,3
LBO	27,0	16,0	8,6	21,5	29,9
MRO	47,7	46,5	12,9	21,3	603,1
PL	28,0	45,1	7,3	15,7	205,1
RBS	39,0	13,3	7,2	12,6	259,1
TLP	24,6	10,0	3,1	7,7	42,6
TZC	54,5	53,7	20,9	36,0	372,2
WSB	21,4	41,8	22,6	21,3	195,2
Média ± EPM	35,9 ± 5,0	35,4 ± 5,6	20,2 ± 6,5	19,3 ± 2,0	264,2±54,8

Tabela IX - Inquérito habitual. Levantamento do consumo alimentar habitual de cálcio, ferro, sódio e cafeína dos atletas, no momento A

Atletas	Cálcio (mg)	Ferro (mg)	Sódio (mg)
ADE	948,3	18,7	2516,7
BAQO	977,9	14,7	1326,1
BLC	349,7	25,7	3798,8
EMC	559,9	10,2	8661,5
ECJ	530,3	13,8	4452,8
EJSJ	378,0	3,2	2896,0
FSSL	440,5	7,9	3516,8
LBO	573,2	30,5	3312,9
MRO	378,9	9,2	3779,4
PL	1930,9	9,3	4563,4
RBS	625,7	7,4	2691,7
TLP	367,5	6,3	1810,4
TZC	1696,5	11,6	3983,7
WSB	1320,8	11,1	4250,7
Média ± EPM	791 ± 138,5	12,8 ± 2,0	3682,9 ± 461,6

Tabela X - Comparação do consumo alimentar habitual com os valores de referência IDR e ACSM, no momento A

		Atletas	IDR		ACSM
			14-18	19-30	
Kcal		3996,4 ± 442,8			
% Carboidratos g/Kg/dia		51,8 ± 2,5 8,1	45-65	45-65	6 - 10
% Proteínas g/Kg/dia		14,5 ± 1,1 2,5	10-30*	10-35	 1,2-1,4
% Lipídios		33,7 ± 2,4	25-35	25-35	20-25
Fibras	(g)	35,9 ± 5,0	38	38	
Á.G.Satur.	(g)	35,4 ± 5,6			
A.G.Mono	(g)	20,2 ± 6,5			
A.G.Poli	(g)	19,3 ± 2,0			
Colesterol	(mg)	264,2 ± 54,8	< 300	< 300	
Cálcio	(mg)	791,3±138,5	1300	1300	
Ferro	(mg)	12,8 ± 2,0	11	8	
Sódio	(mg)	3682,9 ±461,6	1,5	1,5	

*(4-18 anos)

5.1.3 Avaliação do desempenho

O desempenho ou aptidão física no futebol pode ser caracterizado pela faixa de consumo de oxigênio no limiar ventilatório dois (VO_2-LV_2) ou limiar anaeróbio e na potência aeróbia máxima (PAM), pela frequência cardíaca (FC) e pelos níveis de lactato de pico e máximo, respectivamente. Na Tabela XI, mostramos os resultados individuais dos atletas por nós testados.

Tabela XI - Desempenho dos jogadores de futebol no teste de esforço máximo, no momento A: consumo de oxigênio (VO_2 e $\text{VO}_{2\text{máx}}$), Velocidade ($\text{Km}\cdot\text{h}^{-1}$), Frequência Cardíaca (bpm) e lactato, no Limiar Ventilatório Dois (LV2) e no Esforço máximo (VO_2 Pico)

Atletas	VO_2 LV2 ($\text{ml}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$)	Veloc. LV2 ($\text{Km}\cdot\text{h}^{-1}$)	FC LV2 (bpm)	VO_2 Max ($\text{ml}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$)	Veloc. Max ($\text{Km}\cdot\text{h}^{-1}$)	FC Max (bpm)	LAC. Rep. ($\text{mmol}\cdot\text{l}^{-1}$)	LAC. Pico ($\text{mmol}\cdot\text{l}^{-1}$)	LAC. Max. 5 min ($\text{mmol}\cdot\text{l}^{-1}$)
ADE	45,6	12,0	181,0	51,9	15,6	197,0	2,4	14,0	10,6
BAQO	40,1	12,0	143,0	54,7	18,0	178,0	1,7	7,9	5,0
BLC	39,7	10,8	159,0	52,8	15,6	179,0	1,6	11,3	12,6
EMC	42,0	9,6	158,0	61,2	15,6	196,0	2,0	14,6	11,9
ECJ	34,7	12,0	171,0	44,1	16,8	195,0	1,7	11,1	12,2
EJSJ	39,9	10,8	170,0	54,3	15,6	191,0	2,2	15,5	9,6
FSSL	44,4	12,0	168,0	58,9	16,8	197,0	2,5	10,2	9,6
LBO	49,7	13,2	179,0	60,3	16,8	193,0	2,0	14,1	12,3
MRO	42,1	12,0	172,0	54,5	18,0	205,0	1,7	13,7	12,1
PL	52,2	12,0	155,0	59,2	16,8	186,0	2,2	10,2	11,9
RBS	42,9	13,2	152,0	59,8	19,2	175,0	2,4	16,9	13,7
Média ± EPM	43,7±1,2	11,9±0,3	166,0±3,0	55,8±1,2	16,8±0,3	191,3±2,4	2,0±0,1	12,3±0,7	11,6±0,6

O desempenho desses atletas pode ser caracterizado como adequado quando comparado a outras equipes de futebol.

5.1.4 Alterações bioquímicas, moleculares e celulares induzidas pelo teste de esforço máximo

Com o objetivo de caracterizar os jogadores de futebol juniores estudados por nós, analisamos a resposta desses atletas ao teste de esforço máximo no momento A (placebo), estudando diversas alterações bioquímicas, moleculares e celulares que, sabidamente, ocorrem durante o exercício.

5.1.4.1 Alteração do equilíbrio ácido-básico

Para determinar alterações no equilíbrio ácido-básico causadas pelo exercício aeróbio agudo, foram medidos: pH, bicarbonato sérico e ânion gap, antes e depois do teste ergoespirométrico.

Observamos uma acidose metabólica em todos os atletas que realizaram o teste, com queda significativa do pH, resultando em diminuição de bicarbonato e aumento do ânion gap (Figuras 1 e 2). Essas alterações são esperadas nesse tipo de teste e devem-se ao aumento na concentração sérica de lactato.

Figura 3 - Valores de pH em sangue venoso medidos em teste de esforço máximo, no momento A.

Figura 4 - Concentração do bicarbonato em sangue venoso medidos em teste de esforço máximo em esteira, no momento A.

Figura 5 - Dosagem do ânion gap, em sangue venoso, medidos em teste de esforço máximo em esteira, no momento A.

O ânion gap foi calculado através da fórmula:

$$AG = [Na^+] - ([Cl^-] + [HCO_3^-])$$

AG = ânion gap

$[Na^+]$ = concentração sérica de sódio

$[Cl^-]$ = concentração sérica de cloreto

$[HCO_3^-]$ = concentração sérica de bicarbonato

5.1.4.2 Glicemia

Durante o início do exercício, a glicemia se mantém estável, à custa da glicogenólise muscular. Uma vez que aumenta a demanda energética, por aumento do tempo ou intensidade do exercício, podem ocorrer alterações da glicemia. Assim, buscamos em nossos atletas submetidos ao exercício aeróbio agudo, alterações que pudessem sugerir deficiências no metabolismo da glicose. Notamos, nos nossos atletas, que não ocorreu

alteração da glicose sérica, quando comparada à medida após o exercício com a dosagem anterior ao teste ergoespiométrico (Figura 6).

Figura 6 - Glicemia em sangue venoso antes e após o teste de esforço máximo, no momento A.

5.1.4.3 Enzimas musculares

Com o objetivo de determinar o grau de lesão muscular provocado pelo exercício extenuante, foram dosadas as enzimas creatinafosfoquinase (CPK) e lactato desidrogenase (LDH), enzimas intracelulares, presentes em grande concentração em células musculares esqueléticas. Observamos que não houve diferença nas concentrações séricas dessas enzimas, quando comparados os valores obtidos antes e após o teste, no momento A.

Figura 7 - Concentrações séricas de CPK, antes e após teste máximo em esteira, no momento A.

Figura 8 - Concentrações séricas de DHL, antes e após teste máximo em esteira, no momento A.

5.1.4.4 Estresse oxidativo

O exercício físico aumenta a geração de espécies reativas de oxigênio (EROs), principalmente através de um aumento de vazamento de elétrons da cadeia respiratória mitocondrial. As defesas antioxidantes podem não ser capaz de seqüestrar essas EROs, gerando estresse oxidativo e ocasionando lesão de estruturas celulares como proteínas e lípides.

Para determinar se ocorre um aumento do estresse oxidativo durante o exercício físico aeróbio agudo nos jogadores de futebol estudados, foram dosados produtos da peroxidação lipídica (malondialdeído – MDA), antes e depois do exercício. Observamos que o exercício físico agudo causa um aumento na concentração sérica de MDA, sugerindo que ocorre estresse oxidativo durante a atividade.

*p<0,05 vs Antes

Figura 9 - Concentrações plasmáticas de MDA, antes e após teste de esforço máximo, no momento A.

5.1.4.5 Glutamina e Glutamato

Durante o exercício, outros autores reportam uma redução na concentração plasmática de glutamina, levando 5 horas ou mais para se restabelecer (Castell L, 2003).

Os dados apresentados nas figuras 10 e 11 mostram que, nos jogadores de futebol que realizaram o teste de esforço máximo em esteira, ocorreu um aumento da concentração plasmática de glutamina, enquanto as concentrações plasmáticas de glutamato não se alteraram.

Figura 10 - Concentrações plasmáticas de glutamina, antes e após teste máximo em esteira, no momento A.

p = não significativo

Figura 11 - Concentrações plasmáticas de glutamato, antes e após teste máximo em esteira, no momento A.

5.1.4.6 Heat-shock proteins

O estresse oxidativo e metabólico provocado pelo exercício extenuante podem levar à lesão celular. A expressão de proteínas do choque térmico (heat shock proteins – HSPs) é um dos mecanismos protetores do tecido muscular contra injúria. Assim, procuramos determinar se ocorre aumento da expressão da HSP27 em plasma dos jogadores juniores de futebol, quando submetidos a exercício aeróbio supra máximo.

Notamos que não ocorreu alteração na expressão de HSP27 após o exercício, sugerindo que o teste máximo não altera a expressão dessa HSP.

p = não significativo

Figura 12 - Expressão de HSP27, dosada no plasma, antes e após teste máximo em esteira, no momento A.

5.1.4.7 Leucócitos circulantes e diferenciais

As alterações observadas nos leucócitos circulantes são mostradas na Figura 13. Ocorre um aumento de mais de 50% nos leucócitos circulantes, devidos, principalmente ao aumento de neutrófilos e linfócitos circulantes, já que o número de monócitos não se altera significativamente. Esses dados estão de acordo com outros autores, que descrevem alterações semelhantes em atletas de outras modalidades esportivas (Gleeson, 2006). Já em relação às plaquetas, esse aumento não é significativo, como demonstrado na Figura 13.

Figura 13 - Leucócitos circulantes e diferencial, antes e após teste máximo em esteira, no momento A.

5.1.4.8 Plaquetas

Notamos, nos nossos atletas, que não ocorreu alteração sérica das plaquetas, quando comparada à medida após o exercício com a dosagem anterior ao teste ergoespirométrico (Figura 14).

p = não significativo

Figura 14 - Plaquetas, antes e após teste máximo em esteira, no momento A.

5.2 Efeitos da reposição de glutamina peptídeo

Com o objetivo de determinar se a reposição de glutamina peptídeo pode influenciar o desempenho dos jogadores de futebol, foi realizada a reposição, imediatamente antes do teste máximo em esteria (exercício aeróbio agudo extenuante).

Inicialmente, para afastar outras variáveis que pudessem estar influenciando no resultado, foram analisadas novamente os dados antropométricos e nutricionais dos atletas. Não houve alterações nessas medidas, sugerindo que todas as alterações observadas no teste sejam devidas à reposição de glutamina peptídeo.

Para facilitar a apresentação dos dados, iremos, nos resultados a seguir, designar de ▲ A a diferença entre os resultados antes e após o teste de esforço máximo no momento em que os atletas receberam placebo (momento A) e de ▲ B a diferença entre os resultados antes e após o teste de esforço máximo quando receberam glutamina peptídeo (momento B). Esses resultados são os mesmos apresentados acima, na caracterização dos atletas estudados no momento A. Assim, a comparação dos resultados dos ▲ de A e de B poderá nos mostrar o efeito da glutamina peptídeo nas variáveis mensuradas.

5.2.1 Avaliação Antropométrica.

Os dados antropométricos coletados nos atletas nos dois testes não foram diferentes, confirmando que não ocorreram alterações no peso, no IMC e nem no percentual de gordura corporal durante o período que separou os dois testes. Os resultados comparativos (A vs. B) estão mostrados na Tabela XII - Os dados individuais, coletados no Momento B estão mostrados no Apêndice 3.

Tabela XII - Avaliação antropométrica dos atletas nos momentos A e B

	Momento A	Momento B
Peso (Kg)	67,3 ± 1,6	67,3 ± 1,6
Estatura (cm)	175,7 ± 1,8	175,7 ± 1,8
IMC	22,1 ± 0,4	22,2 ± 0,4
% Massa Gorda	7,5 ± 0,9	7,3 ± 0,6

Não há diferença estatística entre os momentos A e B.

5.2.2 Avaliação do Consumo Alimentar

Não houve diferença entre o consumo alimentar, analisado pelo inquérito de 24 horas e inquérito habitual, nos momentos A e B, como mostrado nas Tabelas XIII e XIV. Os dados individuais coletados no Momento B estão no Apêndice 3.

Em conjunto com a manutenção dos dados antropométricos, essa ausência de mudanças no consumo alimentar nos afirma que as diferenças obtidas com a suplementação de glutamina (isto é, no momento B) são devidas somente ao suplemento e não a alterações do consumo alimentar ou peso.

Tabela XIII - Inquérito de 24h. Comparação das médias do grupo no momento A e no momento B para Kcal totais e % de carboidratos, proteínas e lipídios; fibras, ácidos graxos, cálcio, ferro e cafeína

		A	B
Kcal		3929,4 ± 478,9	3139,2 ± 297,3
Carboidrato	%	53,1 ± 3,3	55,3 ± 3,1
Proteína	%	13,0 ± 1,1	15,6 ± 1,8
Lipídio	%	34,0 ± 3,1	29,1 ± 2,4
Fibras	(g)	28,0 ± 3,9	20,9 ± 5,1
A.G.Sat.	(g)	29,0 ± 8,7	20,9 ± 3,2
A.G.Mono	(g)	16,7 ± 5,9	8,3 ± 2,2
A.G.Poli	(g)	33,0 ± 14,2	25,5 ± 15,0
Colesterol	(mg)	185,3 ± 37,4	146,9 ± 35,1
Cálcio	(mg)	813,3 ± 118,1	729,4 ± 94,3
Ferro	(mg)	12,2 ± 1,8	11,6 ± 1,5
Sódio	(mg)	3844,1 ± 742,0	2453,1 ± 283,7

Tabela XIV - Inquérito habitual. Comparação das médias do grupo no momento A e no momento B para Kcal totais e % de carboidratos, proteínas e lipídios; fibras, ácidos graxos, cálcio, ferro e sódio

		A	B
Kcal		3996,4 ± 442,8	3917,3 ± 370,2
Carboidrato	%	51,8 ± 2,5	53,4 ± 2,5
Proteína	%	14,5 ± 1,1	16,2 ± 1,3
Lipídio	%	33,7 ± 2,4	30,4 ± 2,1
Fibras	(g)	35,9 ± 5,0	29,4 ± 4,2
A.G.Sat.	(g)	35,4 ± 5,6	23,6 ± 4,1
A.G.Mono	(g)	20,2 ± 6,5	8,5 ± 1,6
A.G.Poli	(g)	19,3 ± 2,0	14,3 ± 1,9
Colesterol	(mg)	264,2 ± 54,8	135,2 ± 25,5
Cálcio	(mg)	791,3 ± 138,5	1183,2 ± 261,7
Ferro	(mg)	12,8 ± 2,0	16,6 ± 2,1
Sódio	(mg)	3682,9 ± 461,6	3368,5 ± 423,9

5.2.3 Efeito da suplementação de glutamina peptídeo no desempenho

Tabela XV - Comparação do desempenho nos testes realizados com placebo (A) e glutamina peptídeo (B)

Atletas	VO ₂ LV ₂ (ml.kg ⁻¹ .min ⁻¹)	Veloc. LV ₂ (Km.h ⁻¹)	FC LV ₂ (bpm)	VO ₂ Max (ml.kg ⁻¹ .min ⁻¹)	Veloc. Max (Km.h ⁻¹)	FC Max (bpm)	LAC. Rep. (mmol.l ⁻¹)	LAC. Pico (mmol.l ⁻¹)	LAC. Max. 5 min (mmol.l ⁻¹)
ADE	45,6	12,0	181,0	51,9	15,6	197,0	2,4	14,0	10,6
BAQO	40,1	12,0	143,0	54,7	18,0	178,0	1,7	7,9	5,0
BLC	39,7	10,8	159,0	52,8	15,6	179,0	1,6	11,3	12,6
EMC	42,0	9,6	158,0	61,2	15,6	196,0	2,0	14,6	11,9
ECJ	34,7	12,0	171,0	44,1	16,8	195,0	1,7	11,1	12,2
EJSJ	39,9	10,8	170,0	54,3	15,6	191,0	2,2	15,5	9,6
FSSL	44,4	12,0	168,0	58,9	16,8	197,0	2,5	10,2	9,6
LBO	49,7	13,2	179,0	60,3	16,8	193,0	2,0	14,1	12,3
MRO	42,1	12,0	172,0	54,5	18,0	205,0	1,7	13,7	12,1
PL	52,2	12,0	155,0	59,2	16,8	186,0	2,2	10,2	11,9
RBS	42,9	13,2	152,0	59,8	19,2	175,0	2,4	16,9	13,7
Média ± EPM	43,7±1,2	11,9±0,3	166,0±3,0	55,8±1,2	16,8±0,3	191,3±2,4	2,0±0,1	12,3±0,7	11,6±0,6

Tabela XVI - Comparação do desempenho expresso pelas médias e pelo erro padrão das médias, dos atletas no momento A e B

	M o m e n t o	VO ₂ Limiar Anaer. (ml ¹ .Kg ¹ .min ⁻¹)	Veloc. Limiar Anaer. (Km h ¹)	FC Limiar Anaer. (bpm)	VO ₂ max (ml ¹ .Kg ⁻¹ .min ¹)	Veloc. VO ₂ max (Km h ¹)	FC VO ₂ max (bpm)	Lactato Rep. (mmol l ¹)	Lactato Pico (mmol l ¹)	Lactato Máximo 5 min. (mmol l ¹)
Média ± EPM	A	43,7 ± 1,2	11,9 ± 0,3	166,0 ± 3,0	55,8 ± 1,2	16,8 ± 0,3	191,3 ± 2,4	2,0 ± 0,1	12,3 ± 0,7	11,6 ± 0,6
	B	44,0 ± 0,8	11,6 ± 0,2	168,9 ± 3,4	55,8 ± 1,2	16,0 ± 0,2	192,1 ± 2,7	2,1 ± 0,1	12,5 ± 0,7	12,2 ± 0,9

5.2.4 Efeito da suplementação de glutamina peptídeo nas análises bioquímicas

5.2.4.1 Equilíbrio ácido-básico

Para se determinar se a suplementação com glutamina peptídeo era capaz de corrigir as alterações no equilíbrio ácido-básico causadas pelo exercício, foram comparadas as diferenças entre as dosagens de pH, bicarbonato sérico e ânion gap, antes e depois do teste ergoespirométrico, nos dois momentos, A e B.

Observamos que ambos os grupos apresentaram acidose metabólica, com queda significativa do pH, resultando em diminuição de bicarbonato e aumento do ânion gap (Figuras 15 e 16). A reposição de glutamina peptídeo (Momento B) não provocou alterações significativas, comparadas ao momento em que usaram placebo (Momento A).

p= não significativo

Figura 15 - Comparação das diferenças de pH em atletas suplementados com placebo (A) ou glutamina peptídeo (B).

p= não significativo

Figura 16 - Comparação das diferenças de bicarbonato sérico, em atletas suplementados com placebo (A) ou glutamina peptídeo (B).

Figura 17 - Comparação das diferenças de ânion gap, em atletas suplementados com placebo (A) ou glutamina peptídeo (B).

5.2.4.2 Glicemia

Notamos, nos nossos atletas, que não houve alteração significativa na glicemia após o exercício, e que esse fenômeno se repetiu quando foi usada reposição de glutamina peptídeo antes do teste de esforço máximo (Figura 18).

Figura 18 - Comparação das diferenças na glicemia antes e após o teste de esforço máximo, quando os atletas receberam placebo (A) ou glutamina peptídeo (B) imediatamente antes do teste.

5.2.4.3 Enzimas musculares

O teste de esforço máximo não causou elevação significativa das enzimas musculares CPK e DHL, nos atletas por nós testados. A suplementação com glutamina peptídeo, não alterou essa resposta.

p= não significativo

p= não significativo

Figura 19 A e B - Comparação das diferenças na concentração plasmática da enzima muscular CPK e LDH antes e após o teste de esforço máximo, quando os atletas receberam placebo (A) ou glutamina peptídeo (B) imediatamente antes do teste.

5.2.4.4 Estresse oxidativo

Como demonstrado na Figura 7, ocorre um aumento no estresse oxidativo, durante o teste de esforço máximo. A reposição aguda de glutamina peptídeo, imediatamente antes do teste, diminui a concentração plasmática de MDA, sugerindo que a glutamina peptídeo exerce um efeito antioxidante importante.

Figura 20 - Comparação das diferenças na concentração plasmática de MDA antes e após o teste de esforço máximo, quando os atletas receberam placebo (A) ou glutamina peptídeo (B) imediatamente antes do teste.

5.2.4.5 Glutamina e Glutamato

Tanto os atletas que receberam glutamina peptídeo (momento B), quanto os que receberam placebo (momento A) imediatamente antes do teste de esforço máximo, não apresentaram diferença na concentração de glutamina (figura 21). Entretanto, a reposição aguda de glutamina peptídeo, imediatamente antes do teste, aumentou a concentração plasmática de glutamato no pós-teste (figura 22).

p = não significativo

Figura 21 - Comparação das diferenças na concentração plasmática de glutamina antes e após o teste de esforço máximo, quando os atletas receberam placebo (A) ou glutamina peptídeo (B) imediatamente antes do teste.

*p < 0,05 vs ΔA

Figura 22 - Comparação das diferenças na concentração plasmática de glutamato antes e após o teste de esforço máximo, quando os atletas receberam placebo (A) ou glutamina peptídeo (B) imediatamente antes do teste.

5.2.4.6 Análises moleculares e celulares

5.5.4.6.1 Expressão de HSP27

Notamos, nos nossos atletas, que não houve alteração significativa na expressão de HSP27 após o exercício. A reposição de glutamina peptídeo, imediatamente antes do exercício, também não alterou essa medida. (Figura 23).

Figura 23 - Comparação das diferenças na expressão de HSP27 antes e após o teste de esforço máximo, quando os atletas receberam placebo (A) ou glutamina peptídeo (B) imediatamente antes do teste.

5.2.4.6.2 Leucócitos circulantes e diferenciais

A reposição aguda de glutamina peptídeo imediatamente antes do teste de esforço máximo não alterou as diferenças nas contagens de leucócitos e plaquetas circulantes observadas anteriormente, quando os atletas usaram placebo (Figuras 24 e 25)

p = não significativo

Figura 24 - Comparação das diferenças na contagem de leucócitos circulantes e diferenciais antes e após o teste de esforço máximo, quando os atletas receberam placebo (A) ou glutamina peptídeo (B) imediatamente antes do teste.

5.2.4.6.3 Notamos, nos nossos atletas, que não houve alteração significativa nas **plaquetas** séricas após o exercício. A reposição de glutamina peptídeo, imediatamente antes do exercício, também não alterou essa medida. (Figura 25).

p= não significativo

Figura 25 - Comparação das diferenças na contagem de plaquetas circulantes antes e após o teste de esforço máximo, quando os atletas receberam placebo (A) ou glutamina peptídeo (B) imediatamente antes do teste.

6. DISCUSSÃO

6.1 Considerações iniciais

A idéia desse projeto surgiu após análise de dados experimentais do Prof. Dr. Rui Curi do ICB – USP e da Dra. Tânia Pithon-Curi da Unicsul mostrando que suplementação aguda com glutamina melhorou o desempenho de triatletas brasileiros de elite. Era nosso propósito inicial demonstrar os mecanismos pelos quais a reposição de glutamina poderia exercer seus efeitos benéficos e, se possível, aplicar esses conhecimentos a outras situações clínicas onde o organismo é submetido a uma situação de estresse.

Assim, selecionamos atletas da modalidade futebol e da categoria juniores. Esta escolha merece uma explicação. O futebol foi escolhido por ser o esporte mais popular do mundo e do País, onde profissionais que atuam na área usam e abusam de suplementos alimentares e esportivos, sem que conheçam todos os seus efeitos e riscos. Outro fator que nos levou ao futebol foi a quase total ausência de estudos controlados, randomizados e bem executados, com atletas juniores desta modalidade.

Escolhemos os atletas juniores pela maior facilidade de montar uma amostra experimental homogênea. Times profissionais contam, em suas fileiras, com atletas entre 18 a 30 anos. O trabalho com juniores traz a vantagem dos atletas terem uma idade muito próxima (de 18 a 21 anos). A desvantagem é que podem se encontrar em diferentes estágios de maturação física.

Discutiremos a seguir a caracterização da nossa amostra.

6.2 Caracterização da amostra

Os atletas foram selecionados no Palestra São Bernardo, time da Segunda Divisão do futebol paulista, com boa participação na categoria juniores. Precisamos ressaltar a dificuldade de se obter atletas que tenham disponibilidade e disposição para participarem de estudos desse tipo. Sem o incentivo (e, às vezes a cobrança rígida) dos técnicos e preparadores, não teríamos conseguido a adesão, já que, na maioria das vezes os atletas do futebol não estão devidamente conscientizados sobre a importância do treinamento físico. Mesmo assim, o número de atletas que não completaram o estudo foi grande. As perdas foram devidas a contusões durante o período do protocolo, falta de motivação para repetirem o teste e erros na coleta, encaminhamento e preparo das amostras.

Quanto às características do grupo estudado, podemos dizer que eles são representantes da população de jogadores de futebol da categoria juniores no Brasil. Existem poucas estatísticas sobre dados antropométricos de futebolistas dessa categoria no mundo e em nosso País estes dados são inexistentes. Entretanto, os dados coletados e por nós estudados são bastante semelhantes aos obtidos nos atletas convocados para a Seleção Brasileira da categoria. Esse achado nos sugere que nossa amostra era representativa dos atletas dessa idade e modalidade no Brasil.

Existem mais dados publicados sobre as medidas antropométricas de times profissionais adultos, em todo o mundo, mas, por motivos óbvios, não nos servem como comparação.

6.2.1 Avaliação antropométrica e da composição corporal

Para se avaliar a composição corporal dos futebolistas foram coletadas as medidas antropométricas de massa corpórea e estatura e as dobras cutâneas, que foram utilizadas em associação com as medidas antropométricas para se estimar o percentual de gordura corporal. Estas duas técnicas nos permitiram estimar o percentual de gordura corporal e avaliar se este percentual estava de acordo com padrões de recomendação de percentual de gordura corporal para atletas do sexo masculino, faixa etária e de desenvolvimento e modalidade esportiva. A composição corporal é um importante aspecto do condicionamento físico do futebolista, uma vez que o excesso de tecido adiposo ou massa gorda funciona como uma sobrecarga adicional que compromete o seu deslocamento e conseqüentemente seu desempenho. É importante lembrar também que o tipo de treinamento, a temporada de jogos e competições, os períodos de descanso, todos irão influenciar na relação entre massa magra e massa gorda do atleta. Por exemplo: futebolistas com percentual de gordura corporal muito alto, provavelmente encontram-se com valores de massa corpórea altos; ou com massa gorda muito baixa, estão a ponto de comprometer não só o seu desempenho, mas também a sua saúde. Isto pode ser reflexo de um período com excesso de treinamento ou de restrição ou inadequação alimentar, ou das duas situações associadas.

A avaliação da composição corporal realizada nos futebolistas revelou um percentual de massa gorda de grande variabilidade interindividual. Este

percentual de massa gorda é muito baixo frente a outros padrões de referência. Ostojic afirma que valores de 7,5% de massa gorda sejam inadequados para futebolistas dessa faixa etária, apesar dos índices de massa corporal adequado (Ostojic, 2003). Valores de percentual de gordura maiores foram encontrados por Arnason *et al.* (2004), sendo que jogadores de elite apresentavam 10% de massa gorda e os jogadores da primeira divisão 11,4%. Nos trabalhos publicados por Chamari *et al.* (2005), o valor de percentual de gordura para jogadores adolescentes do sexo masculino era por volta de 11% e no de McIntyre *et al.* (2005) os valores eram de aproximadamente 14,5%, dependendo da posição em campo dos jogadores. Uma das possíveis causas para os valores de percentual de gordura encontrados, talvez seja o hábito alimentar dos jogadores deste estudo, que como foi identificado, era rico em lipídios e pobre em carboidratos. Este padrão de ingestão alimentar pode ter influenciado na mobilização e utilização do excesso de lípidos ingeridos como substrato energético, uma vez que faltava carboidrato na dieta destes jogadores, comprometendo a deposição destes lipídios no tecido adiposo subcutâneo e conseqüentemente, na obtenção de valores melhores de percentual de massa gorda.

6.2.2 Consumo alimentar

6.2.2.1 Carboidratos

De acordo com os dados de consumo alimentar apresentados nos resultados, a ingestão calórica tanto do inquérito de 24h quanto do inquérito habitual era de aproximadamente 3900 Kcal. Como citado previamente, este valor está em acordo com os dados de requerimento calórico para futebolistas, entre 3150 a 4300 Kcal (Clark,1994). Apesar de a ingestão calórica estar na faixa de recomendação para futebolistas, o percentual das calorias provenientes de carboidratos é de 54%, o que está abaixo da faixa de recomendação do Colégio Americano de Medicina Esportiva (ACSM), que é de 60% das calorias na fase de treinamento e abaixo da recomendação da IDR.

A disponibilidade de carboidrato como substrato energético para os músculos e o sistema nervoso central é um fator crítico no desempenho de sessões de exercício prolongado submáximo ou intermitente e no exercício de alta intensidade, pois exerce um papel permissivo no desempenho do exercício de curta duração e alta intensidade. Os reservatórios de carboidratos corporais são limitados e freqüentemente mais baixos do que o requerimento energético dos programas de exercício diário de muitos atletas. A ingestão de carboidrato antes, durante e entre sessões de exercício ou treino e nos períodos de recuperação, é importante como alternativa para se aumentar ou manter os estoques de carboidrato, reduzindo ou retardando a fadiga, além de aumentar o desempenho durante

a próxima série de exercício (Burke *et al.*, 2001). É importante lembrar que os atletas deste estudo encontravam-se em jejum de 12 h, de modo que a ingestão da solução de carboidrato seria indispensável para a realização dos testes, no sentido de minimizar uma perda de desempenho ou ocorrência de fadiga precoce.

A ingestão de carboidrato após o exercício prolongado e intermitente também é importante porque tem demonstrado que resulta numa supercompensação da reposição do glicogênio muscular e o período para que ocorra tal recuperação dos estoques de glicogênio parece ser de no máximo de 24h para exercícios intermitentes (Kirkendall, 1993). Uma das razões pela qual é observada uma diminuição no desempenho dos futebolistas no segundo tempo é a diminuição dos estoques de glicogênio (Kirkendall, 1993). Se observarmos o padrão de ingestão alimentar dos futebolistas deste projeto de pesquisa, além da ingestão de carboidrato não ser compatível com o que recomenda o ACMS, não existe o hábito de suplementar carboidrato, nem em treinos e nem em competições. Também inexistia um profissional de nutrição para prescrever dietas ricas em carboidrato, nem durante os treinos e nem nos períodos de competição. A falta de orientação dietética correta, associada aos padrões de alimentação inadequados pode influenciar negativamente o desempenho destes futebolistas. Exercícios de curta duração e alta intensidade tendem a depletar os estoques de carboidrato principalmente nas fibras de contração rápida (Yoshimura *et al.*, 2005), entretanto não houve diferença na glicemia antes e após os testes nos atletas, em nenhum dos dois momentos.

6.2.2.2 Proteínas

A ingestão de proteína representa em média 14,8% das calorias da dieta e está de acordo com a recomendação do ACSM, que é de 10 a 20% das calorias. Esta ingestão representa 14,2 g /dia. Se considerarmos que a ingestão em grama de proteína por quilo de peso para esportes de resistência é de 1,2 a 1,4g/dia, e que a média de peso dos futebolistas do protocolo é de 67 Kg, a ingestão de proteína equivale a 2,12 g / Kg / dia, ou seja, muito acima do recomendado e também comprometendo em muito a ingestão de carboidratos e sua ação sobre o desempenho.

6.2.2.3 Lipídios

A ingestão de lípidos encontra-se numa faixa que corresponde 31,5% das calorias, acima do que recomenda o Colégio Americano de Medicina Esportiva (ACSM), ou seja, 20 a 25% das calorias da dieta, mas de acordo com o que preconiza a IDR (Trumbo *et al.*, 2002). Considerando que estes adolescentes são atletas de futebol e se considerarmos como mais relevante o padrão de recomendação do ACSM, esta ingestão de lípidos está inadequada e comprometendo a ingestão de carboidrato, uma vez que os lípidos passam a predominar como substrato energético. Isto ocorre porque muitos dos alimentos ou preparações alimentares ingeridas pelos atletas são ricos em lípidos, explicando assim o valor encontrado.

Em relação aos ácidos graxos saturado, mono, poliinsaturado e colesterol, podemos observar que dentre estes a maior ingestão foi para o

ácido graxo saturado e poliinsaturado. Nos inquéritos alimentares habituais, observa-se a mesma tendência: consumos maiores para ácido graxo saturado e poliinsaturado, mas em relação a este último o consumo é menor na anamnese se comparado ao inquérito de 24h. A recomendação segundo a Ingestão Dietética Recomendada (IDR, 2005), a ingestão de ácidos graxos saturados na dieta deve ser menor ou igual a 10% do total de calorias, de ácidos graxos poliinsaturados igual e monoinsaturados maior ou igual a 10%. A ingestão de colesterol deve ser menor do que 300mg / dia. Não existe uma recomendação de ingestão em grama/Kg de peso para os ácidos graxos saturados e monoinsaturados, apenas para os poliinsaturados, especialmente para o ácido graxo linoléico, sendo que a média de ingestão para adultos jovens é de: 17g / d homens e 12 g / d para mulheres (IDR, 2005). Se considerarmos os ácidos graxos poliinsaturados totais, o consumo dos atletas nos inquéritos (25 a 33 g/dia) foi maior do que o verificado nos inquéritos habituais (19 e 14 g/dia), mas como não foi calculada deste total a quantidade de ácido graxo linoléico, não podemos afirmar a adequação ou não da ingestão deste nutriente.

6.2.2.4 Fibras alimentares

Fibra alimentar ou fibra dietética é uma classe de compostos de origem vegetal constituída, sobretudo de polissacarídeos e substâncias associadas que, quando ingeridas, não sofrem hidrólise, digestão e absorção (Prosky, 2001). A recomendação para a ingestão de fibra alimentar por dia, segundo IDR é de 14 g/ 100 Kcal / dia, ou 38 g / dia (IDR,

2002) e se considerarmos este padrão, a média de ingestão diária dos futebolistas encontra-se abaixo da recomendação, tanto no inquérito de 24h (24g), quanto no inquérito alimentar habitual, onde a média diária de ingestão foi de 32,6 g.

No hábito alimentar dos futebolistas a principal fonte de fibra alimentar é o feijão, pois o consumo de verduras, legumes e frutas é muito baixo. Se por um lado a ingestão de fibras é benéfica por modular o metabolismo do colesterol, dos açúcares e estimular o peristaltismo intestinal, entre outros, por outro lado também pode interferir na biodisponibilidade de minerais, diminuindo a absorção, principalmente do cálcio, do magnésio, do ferro e do zinco (Torre *et al.*, 1991; Couzy *et al.*, 1998; Periago *et al.*, 1997).

6.2.2.5 Cálcio

Em relação ao cálcio, o consumo médio nos inquéritos foi menor do que o observado nos inquéritos habituais. Considerando que a recomendação de cálcio em miligramas, para o sexo masculino, dependendo da faixa etária, varia de 1300 a 1000 mg por dia, pode-se considerar que houve ingestão inadequada. Constatou-se também que a dieta dos futebolistas é pobre em alimentos vegetais e praticamente isenta de alimentos como frutas e aveia. A biodisponibilidade do cálcio é influenciada positivamente pela ingestão de frutose, ácido ascórbico, ácido cítrico, fibra solúvel e lactose (especialmente em crianças), componentes principalmente de alimentos vegetais como frutas e aveia, os quais praticamente não são consumidos pelos futebolistas. Além de ingerirem

uma baixa quantidade de alimentos ricos em cálcio, observou-se um consumo desprezível de alimentos potencializadores da biodisponibilidade do cálcio, além de um consumo excessivo de proteína, cafeína, fósforo (carnes e chocolate) e sódio (Cozzolino, 2005). Isso tende a comprometer ainda mais a homeostase do cálcio, um mineral tão importante, não só para a saúde, quanto para o desempenho destes atletas.

6.2.2.6 Ferro

A ingestão média de ferro nos inquéritos de 24h foi maior do que a identificada nos inquéritos habituais. De acordo com a IDR, a recomendação de ferro para jovens do sexo masculino, de mesma faixa etária é de 8 mg/dia, ou seja, os futebolistas não apresentam ingestão deficiente deste mineral (Barr *et al.*, 2002; DRI 2002). É importante ressaltar, que a alta ingestão de carne observada nos jogadores garante um aporte adequado de ferro heme, uma vez que esta forma de ferro é independente da composição da refeição e é pouco afetada por fatores facilitadores e/ou inibidores da alimentação. Em dietas mistas, a absorção de ferro heme pode chegar a 15-20% (COLLI, 1988) do total de ferro da dieta. Além disto, a maior parte da dieta destes jogadores é rica em feijão, uma leguminosa rica em ferro não heme. O ferro não heme depende de alguns fatores para garantir sua absorção, como aporte adequado de vitamina A, presença concomitante do ácido ascórbico, presença do fator carne (ingestão concomitante de carne e leguminosa na refeição), estado nutricional, e secreção gástrica de ácido clorídrico. Da mesma forma, a

competição do ferro com outros nutrientes como zinco, cálcio, fitato e a biodisponibilidade do ferro presente nas refeições depende da forma química, da presença de fatores que influenciam a absorção e das necessidades de ferro do indivíduo (Cozzolino, 2005).

6.2.3 Desempenho físico e variáveis associadas

De acordo com a literatura sobre desempenho de atletas juniores no futebol, podemos considerar que a amostra estudada era bem condicionada e conseqüentemente representativa da modalidade e da faixa etária (Pyne *et al.*, 2006; Arnason *et al.*, 2004). Se observarmos os resultados obtidos pelos atletas deste estudo para os parâmetros de consumo de oxigênio (VO_2), velocidade (Veloc.) e frequência cardíaca (FC) tanto no limiar ventilatório dois (LV_2 ou limiar anaeróbio), quanto no consumo máximo de oxigênio (VO_{2max}), tanto no momento A, quanto no B, verifica-se que não houve diferença estatística entre os resultados obtidos em nenhum dos dois momentos. Isto significa que a glutamina peptídeo não foi capaz de modular uma melhora no desempenho dos nossos atletas, por meio do teste máximo.

Teria o resultado sido influenciado pelo hábito alimentar pelo percentual de gordura corporal, pelo tipo de treinamento físico ou pelo período do campeonato (metade do campeonato) em que estes atletas se encontravam? Provavelmente todos estes fatores influenciaram os resultados alcançados. Entretanto, nossos dados não nos permitem

concluir se esses fatores foram os responsáveis pela ausência de ação da suplementação de glutamina peptídeo sobre o desempenho. De qualquer forma, estas considerações não podem ser desprezadas, principalmente se compararmos nossos dados com os de outros autores que utilizaram protocolo semelhante. Peres *et al.* utilizaram o mesmo protocolo de esforço máximo para determinar o efeito da suplementação de glutamina peptídeo e carboidrato em triatletas de elite do Brasil (Peres, 2004). Nesse estudo observou-se um aumento na velocidade no limiar anaeróbio (LV_2) de $14,38 \pm 1,02$ para $15,58 \pm 1,19$ Km/h, quando os atletas recebem a suplementação. Além da velocidade, foi obtido um aumento no percentual do consumo máximo de oxigênio ($\%VO_{2\text{máx}}$) de $79,33 \pm 4,03\%$ para $87,22 \pm 4,47\%$. Isto significa que os triatletas do estudo de Peres, obtiveram um maior desempenho aeróbio e maior tolerância ao esforço, após suplementação.

Para efetuar comparações entre esses dois estudos, é necessário deixar claras algumas desigualdades. Inicialmente devemos considerar a diferença entre os atletas estudados. Estudamos somente jogadores entre 18 e 21 anos, enquanto os triatletas pertenciam a uma faixa etária mais avançada. Além disso, o triatlon é um esporte que exige uma enorme capacidade aeróbia dos seus praticantes, especialmente os da elite competitiva, o que é evidenciado pelo alto $VO_{2\text{max}}$ obtido nos estudos.

Apesar dessas diferenças aparentes, chama a atenção o pobre estado nutricional de nossos atletas. Apesar de não sabermos o estado nutricional dos triatletas do estudo de Peres, no nosso estudo, é prudente

não esquecermos que os jogadores apresentaram um padrão de alimentação desbalanceado, tão rico em proteína e lipídio, quanto que inadequado em carboidrato, como discutido anteriormente. Inadequados também foram os valores de percentual de gordura identificado, apesar de estes valores serem praticamente os mesmos nos dois testes, não se pode deixar de considerar que tal percentual de gordura seja um reflexo do estado nutricional destes jogadores. Quando um indivíduo apresenta um percentual de gordura baixo, isto pode ser um indicativo de subnutrição ou ainda de falta de substrato adequado (glicogênio e glicose) para o desempenho de uma modalidade de caráter aeróbio e intermitente, pois a quantidade excessiva de lipídio ingerido deve ter sido desviada para uso com substrato energético. O que parece justificável, pois a ingestão de lípidos pelos jogadores encontrava-se muito acima da faixa de recomendação do Colégio Americano de Medicina Esportiva, enquanto que os percentuais de gordura corporal eram muito baixos. De qualquer forma, os valores de percentual de gordura encontrados podem ser um dos fatores a influenciar o desempenho alcançado pelos nossos jogadores.

6.2.3.1 Bioquímica

6.2.3.1.1 Glutamina

Se observarmos os valores de glutamina obtido pelos jogadores no momento A, verificamos que ocorre um aumento nos valores de glutamina plasmática. Este dado é contrário do que é normalmente observado na recuperação dos esportes de resistência, ou seja, uma queda significativa e

prolongada na concentração de glutamina plasmática (Hiscock *et al.*, 2003; Castell, 2003; Castell, 2001), mas está de acordo com os resultados obtidos por Kargotich (Kargotich *et al.*, 2006), onde se verificou um aumento na glutamina plasmática após seis semanas de treinamento de resistência progressivo. Entretanto, o modelo de teste usado neste estudo foi de agudo (teste máximo) ao contrário do modelo usado por Kargotich.

Por sua vez, os níveis plasmáticos de glutamato dos atletas não se alteraram no pós-teste no momento A, ao contrário do que foi observado por Smith (Smith *et al.*, 2000) em atletas de elite de várias modalidades.

Os valores de glutamina e glutamato dos atletas no momento B, como podem ser verificados nos resultados, indicam uma inversão do que ocorreu com estes atletas no momento A, ou seja, a glutamina no pós-teste não foi estatisticamente significativa, mas o aumento do glutamato sim. Este aumento poderia ter sido induzido pela suplementação de glutamina peptídeo, pois o modelo de exercício, de acordo com outros parâmetros identificados (lesão celular), não produziu catabolismo da massa magra ou muscular. Provavelmente a alta ingestão de proteína da dieta também não, pois os atletas encontravam-se com no mínimo doze horas de jejum e esta provavelmente já teria sido degradada para manutenção da homeostase da glicemia durante o período que antecedeu os testes. Isto significa que o aumento detectado no glutamato plasmático no pós-exercício no momento B pode ter sido obtido através da suplementação.

6.2.3.1.2 Equilíbrio ácido-básico do sangue

Os resultados mostraram que os atletas no momento A produziram uma acidose metabólica consequente ao aumento da lactatemia, como pode ser observada nas tabelas de desempenho. O aumento na acidose é uma consequência do aumento da intensidade do exercício, quando o músculo esquelético produz e consome ácido láctico para gerar energia (Evans 2007).

No momento B, pode-se verificar que não houve diferença em relação ao momento A no equilíbrio ácido-básico do sangue. A reposição com glutamina peptídeo não causou qualquer tipo de alteração no equilíbrio ácido-básico. A principal causa talvez seja o fato destes atletas não serem bem condicionados aerobicamente. Em atletas com treinamento aeróbio adequado, esse tipo de teste induz acidose mais severa da que observada por nós, em decorrência de um consumo de oxigênio acima do limiar anaeróbio (LV_2), com valores de lactato mais altos (Hamilton *et al.*, 1991; Nazar *et al.*, 1992; Ravier *et al.*, 2006).

6.2.3.1.3 Glicemia

Como pode ser observado nos resultados, não houve diferença na glicemia antes e depois do exercício, nem no momento A e nem no B. Provavelmente não foram detectadas alterações na glicemia pelo curto espaço de tempo do teste, mas se fosse um teste prolongado, talvez talvez tivéssemos detectado alteração na glicemia.

6.2.3.1.4 Estresse oxidativo:

Os atletas deste estudo realizaram um trabalho de predominância anaeróbia (teste máximo), como podemos comprovar pelos valores de consumo de oxigênio, consumo máximo de oxigênio, lactato e frequência cardíaca, registrados. Os resultados mostram que o teste máximo foi capaz de induzir estresse oxidativo nos nossos atletas. Este é um fato extremamente relevante, porque não existe nenhuma publicação que comprove o achado deste estudo, teste máximo em jogadores de futebol gerando estresse oxidativo (aumento da peroxidação lipídica). É comum observarmos a ocorrência de estresse oxidativo em atletas de resistência, da mesma forma que um aumento das enzimas antioxidantes como uma adaptação a este estresse quando o exercício ou treinamento é realizado periodicamente (Ji 1999; Quindry *et al.*, 2003). Em atletas que realizam treinamento de força (curta duração e alta intensidade), segundo alguns autores (Acikgoz *et al.*, 2006; Dixon *et al.*, 2006) este tipo de exercício parece não ser capaz de aumentar o estresse oxidativo ou a produção da peroxidação lipídica, com aumento de malondialdeído.

Um dado interessante em nosso estudo foi o achado da reposição da glutamina ter sido capaz de diminuir a concentração dos produtos de peroxidação lipídica circulantes. A causa mais provável para esse efeito seria uma maior síntese de glutathione reduzida. Na presença de uma geração aumentada de espécies reativas de oxigênio, como a que ocorre, por exemplo, durante o exercício, as defesas antioxidantes celulares são ativadas, na tentativa de se reduzir o dano oxidativo às estruturas celulares.

O principal sistema antioxidante intracelular é formado pela glutathione reduzida, que reage com peróxido de hidrogênio, na presença da enzima glutathione peroxidase, formando glutathione oxidada. A glutamina é componente essencial na formação de glutathione e sua suplementação pode ter elevado a concentração celular de glutathione reduzida, diminuindo, assim, a lesão oxidativa a lípidos, identificada por nós através da concentração sérica de malondialdeído. Alguns autores sugerem que a suplementação com glutamina aumenta a concentração de glutamato, mas não a síntese de glutathione (Valência *et al.* 2002). Entretanto, é descrito que a concentração de glutamato é um fator limitante significativo para a síntese de glutathione (Rutten *et al.* 2005). Infelizmente não pudemos realizar a dosagem de glutathione reduzida e oxidada em nossos atletas, porém esse é um campo de estudo promissor e interessante.

É necessário notar, entretanto, que, embora a reposição de glutamina tenha exercido um efeito antioxidante, esse efeito não se traduziu em melhora do desempenho, sugerindo que alterações no desempenho não dependam do equilíbrio redox intracelular. Essa hipótese, entretanto, ainda carece de maior base experimental e deverá ser testada em outros protocolos desenhados com esse objetivo. Esse dado pode ser importante, devido à prescrição indiscriminada de vitaminas e outras substâncias com potencial ação antioxidante como capazes de melhorar o desempenho atlético.

6.2.3.1.5 Lesão celular

O tipo de teste aplicado, segundo os resultados obtidos, não foi capaz de alterar os marcadores de lesão celular (CPK e DHL), sugerindo que não houve dano às células musculares.

Dessa maneira, o papel da reposição de glutamina na proteção celular não pode ser adequadamente avaliado, já que a lesão muscular não ocorreu.

O mesmo raciocínio pode ser utilizado em relação à expressão de HSP27. Em nosso estudo, ao contrário do que foi encontrado por Wischmeyer (2006; 2002; 2001), nem o exercício físico, nem a reposição de glutamina exerceram qualquer efeito na expressão de HSP27.

A característica do exercício realizado por nossos atletas, de curta duração, não nos possibilitou uma análise mais acurada do efeito da glutamina na proteção celular, pois mesmo no momento em que os atletas não receberam o suplemento, a lesão celular foi desprezível. Para estudar especificamente esse efeito, outros modelos experimentais devem ser usados, com exercício intenso por tempo mais prolongado.

6.2.3.1.6 Leucócitos circulantes e diferenciais

Inicialmente, a resposta imunológica ao exercício é caracterizada por leucocitose, acompanhada de um aumento no número de neutrófilos e monócitos. Esta leucocitose induzida pelo exercício pode ser atribuída principalmente a uma neutrofilia, resultado de liberação de neutrófilos polimorfonucleares imaturos da medula óssea (Gleeson, 2006; McCarthy, *et*

al., 1988; Suzuki *et al.*, 2000). Os principais mediadores envolvidos no fenômeno são as catecolaminas e o cortisol, mas envolvem também ações simultâneas das citocinas, moléculas de adesão, fatores de crescimento e interação célula-célula (Malm, 2004).

Pudemos observar, em nossos atletas, um marcado aumento do número de leucócitos circulantes, principalmente neutrófilos e também verificamos que não ocorre qualquer alteração significativa no grupo que recebeu suplementação com glutamina peptídeo, quando comparado ao grupo placebo. Entretanto, não foram realizados testes funcionais desses leucócitos, e, portanto, não podemos afirmar se a suplementação com glutamina altera a função imunológica.

Um dado importante que deve ser considerado também é que a integridade do sistema imune depende e muito do hábito alimentar, adequado em calorias, carboidrato, lipídio, proteína e micronutrientes (Gleeson, 2006), ao contrário do que foi verificado neste estudo. Sendo assim, sem corrigir o hábito alimentar, a suplementação com glutamina isoladamente, não é capaz de modular a resposta imune frente ao estresse induzido pelo exercício intenso.

6.2.3.1.7. Plaquetas

De acordo com os resultados obtidos, a concentração das plaquetas antes e após cada teste, nos dois momentos, não apresentou diferença estatística. Os dados na literatura sobre o comportamento plaquetário são escassos e inconclusivos, não permitindo estabelecer um padrão de

comparação. Haber (1980) verificou uma diminuição na contagem de plaquetas que era igual ao aumento reversível na agregação plaquetária e que estes fenômenos tinham relação com a acidose induzida pelo exercício intenso. No trabalho de Karakoc *et al.* (2005), eles verificaram, após os jogos, um aumento na concentração plasmática das plaquetas. De qualquer forma, detectamos a ocorrência de acidose, mas não um aumento na concentração de plaquetas e nem a influência da suplementação com glutamina peptídeo sobre este parâmetro.

7. CONCLUSÕES

- A caracterização da equipe de futebol juniores mostrou atletas com parâmetros antropométricos (peso e altura) pertinentes à faixa etária e fase de maturação, mas com um percentual de gordura corporal extremamente heterogêneo.
- A avaliação nutricional mostrou que suas dietas não satisfaziam o requerimento nutricional segundo ACSM e IDR.
- O exercício causou acidose metabólica, com aumento da lactatemia, aumento nos produtos da peroxidação lipídica, aumento dos leucócitos circulantes, sem alterações na glicemia, enzimas musculares, proteína do choque térmico 27 (HSP27).
- A suplementação com glutamina peptídeo e carboidrato não foi capaz de proporcionar uma melhora no desempenho físico aeróbio esperado pela modalidade esportiva em questão.
- A suplementação com glutamina peptídeo e carboidrato não alterou as variáveis bioquímicas, moleculares e celulares, após o exercício, quando comparadas àquelas obtidas quando os atletas receberam placebo. A exceção foi para os produtos de peroxidação lipídica, que foram menores quando os atletas receberam glutamina peptídeo e a concentração de glutamato plasmático.
- Frente aos resultados obtidos, concluímos que sem uma alimentação adequada (segundo requerimento estabelecido pela IDR e ACSM) para

faixa etária, estágio de maturação sexual e modalidade esportiva, mesmo com a prescrição correta de treinamento, a suplementação com glutamina peptídeo não será capaz de proporcionar efeitos positivos no desempenho físico.

8. ANEXOS

Anexo 8.1

Carb up (Probiótica): Pó para preparação da solução de carboidrato, usada nos testes – composição química:

Quantidade por Porção		% VD*
Valor Calórico	190 Kcal	8%
Carboidratos	48,0 g	13%
Proteínas	0 g	0%
Gorduras Totais	0 g	0%
Sódio	0 mg	0%
Potássio	84,0 mg	-
Vitaminas		%IDR**
Vitamina B1 (Tiamina) (mg)	0,6	40%
Vitamina B6 (Piridoxina) (mg)	0,8	40%
Vitamina H (Biotina) (mg)	0,06	40%
Niacina (mg)	7,2	40%
Ácido Pantotênico (mg)	2,4	40%
Vitamina C (Ácido Ascórbico) (mg)	24	40%
Vitamina A (mcg)	320	40%

*Valores Diários de Referência com base em uma dieta com 2500 calorias.

**Ingestão Diária Recomendada para adultos.

Anexo 8.2

Comprimido Glutimune (Nutral) – composição química

Perfil de Aminoácidos 100g/PTN	Glutimune 700mg
Alanina (Ala)	0,18mg
Arginina (Arg)	0,20mg
Ácido Aspártico (Asp)	0,21mg
Cistina (Cys)	0,08mg
Ácido glutâmico (Glu)	2,65mg
Glutamina (Gln)	2,56mg
Glicina (Gly)	0,23mg
Histidina (His)	0,13mg
Isoleucina (Ileu)	0,28mg
Leucina (Leu)	0,49mg
Lisina (Lys)	0,10mg
Metionina (Met)	0,11mg
Fenilalanina (Phe)	0,37mg
Prolina (Pro)	0,92mg
Serina (Ser)	0,31mg
Treonina (Thr)	0,15mg
Triptofano (Trp)	0,06mg
Tirosina (Tyr)	0,24mg
Valina (V)	0,28mg

Anexo 8.3

Escala RPE de BORG

6. Sem nenhum esforço   7. Extremamente leve   8.   9. Muito leve   10.   11. Leve   12.   13. Um pouco intenso   14.   15. Intenso (pesado)   16.   17. Muito intenso   18.   19. Extremamente intenso   20. Máximo esforço

9. REFERÊNCIAS

Acikgoz O, Aksu I, Topcu A, Kayatekin BM. Acute exhaustive exercise does not alter lipid peroxidation levels and antioxidant enzyme activities in rat hippocampus, prefrontal cortex and striatum. *Neurosci Lett* 2006; 406(1-2):148-51.

Albers S, Wernerman J, Stehle P, Vinnars E, Furst P. Availability of amino acids supplied intravenously in healthy man as synthetic dipeptides: kinetic evaluation of L-alanyl-L-glutamine and glycyl-L-tyrosine. *Clin Sci (Lond)* 1988;75(5):463-8.

Almeida AF, Costa Rosa LF, Curi R. Glutamine metabolism is changed in lymphocytes from aged rats. *Physiol Behav* 1996;60(3):973-8.

Arnason A, Sigurdsson SB, Gudmundsson A, Holme I, Engebretsen L, Bahr R. Physical fitness, injuries, and team performance in soccer. *Med Sci Sports Exerc* 2004;36(2):278-85.

Antonio J, Street C. Glutamine: a potentially useful supplement for athletes. *Can J Appl Physiol* 1999;24(1):1-14.

Ardawi MS, Majzoub MF. Glutamine metabolism in skeletal muscle of septic rats. *Metabolism* 1991;40(2):155-64.

Askanazi J, Furst P, Michelsen CB, Elwyn DH, Vinnars E, Gump FE, et al. Muscle and plasma amino acids after injury: hypocaloric glucose vs. amino acid infusion. *Ann Surg* 1980;191(4):465-72.

Bacurau RF, Bassit RA, Sawada L, Navarro F, Martins E, Jr., Costa Rosa LF. Carbohydrate supplementation during intense exercise and the immune response of cyclists. *Clin Nutr* 2002;21(5):423-9.

Bailey DM, Davies B, Romer L, Castell L, Newsholme E, Gandy G. Implications of moderate altitude training for sea-level endurance in elite distance runners. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 1998;78(4):360-8.

Bangsbo J. The physiology of soccer--with special reference to intense intermittent exercise. *Acta Physiol Scand Suppl* 1994;619:1-155.

Bangsbo J, Norregaard L, Thorso F. Activity profile of competition soccer. *Can J Sport Sci* 1991;16(2):110-6.

Barr SI, Murphy SP, Poos MI. Interpreting and using the dietary references intakes in dietary assessment of individuals and groups. *J Am Diet Assoc* 2002;102(6):780-8.

Batista MR, Curi R, Lima FB, Lopes G, Bazotte RB. Effect of a meal feeding schedule on hepatic glycogen synthesis and gluconeogenesis in rats. *J Biomed Sci* 2001;8(3):256-61.

Batista MR, Vasconcelos MS, Rebola VD, Galletto R, Curi R, Bazotte RB. Hepatic gluconeogenesis in rats trained to eat a single meal daily. Role of eating periodicity and the amount of food ingested in the last meal. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol* 2001;109(5-6):345-56.

Bavarel, G, Lund P. A role for bicarbonate in the regulation of mammalian glutamine metabolism. *Biochem J* 1979; 184: 599-600.

Beckmann RP, Mizzen LE, Welch WJ. Interaction of Hsp 70 with newly synthesized proteins: implications for protein folding and assembly. *Science* 1990;248(4957):850-4.

Benjamin IJ, McMillan DR. Stress (heat shock) proteins: molecular chaperones in cardiovascular biology and disease. *Circ Res* 1998; 83(2):117-32.

Bergh U, Ekblom B, Astrand PO. Maximal oxygen uptake "classical" versus "contemporary" viewpoints. *Med Sci Sports Exerc* 2000;32(1):85-8.

Biesek S, LA ves, Guerra I. Estratégias de Nutrição e Suplementação no Esporte . Barueri. Manole; 2005, p. 536.

Bishop NC, Blannin AK, Robson PJ, Walsh NP, Gleeson M. The effects of carbohydrate supplementation on immune responses to a soccer-specific exercise protocol. *J Sports Sci* 1999;17(10):787-96.

Bjorkman O, Felig P, Wahren J. The contrasting responses of splanchnic and renal glucose output to gluconeogenic substrates and to hypoglucagonemia in 60-h-fasted humans. *Diabetes* 1980;29(8):610-6.

Blanchard MA, Jordan G, Desbrow B, MacKinnon LT, Jenkins DG. The influence of diet and exercise on muscle and plasma glutamine concentrations. *Med Sci Sports Exerc* 2001;33(1):69-74.

Bortz WM, Paul P, Haff AC, Holmes WL. Glycerol turnover and oxidation in man. *J Clin Invest* 1972;51(6):1537-46.

Branson RD. The measurement of energy expenditure: instrumentation, practical considerations and clinical application. *Resp Care* 1990; 35:640-56.

Brundin T, Wahren J. Renal oxygen consumption, thermogenesis, and amino acid utilization during i.v. infusion of amino acids in man. *Am J Physiol* 1994;267(5 Pt 1):E648-55.

Bunc V, Psotta R. Physiological profile of very young soccer players. *J Sports Med Phys Fitness* 2001;41(3):337-41.

Burke LM, Loucks AB, Broad N. Energy and carbohydrate for training and recovery. *J Sports Sci* 2006;24(7):675-85.

Burke LM, Cox GR, Culmings NK, Desbrow B. Guidelines for daily carbohydrate intake: do athletes achieve them? *Sports Med* 2001;31(4):267-99.

Burke LM. Nutrition for post-exercise recovery. *Aust J Sci Med Sport* 1997;29(1):3-10.

Burke LM, Collier GR, Davis PG, Fricker PA, Sanigorski AJ, Hargreaves M. Muscle glycogen storage after prolonged exercise: effect of the frequency of carbohydrate feedings. *Am J Clin Nutr* 1996;64(1):115-9.

Candow DG, Chilibeck PD, Burke DG, Davison KS, Smith-Palmer T. Effect of glutamine supplementation combined with resistance training in young adults. *Eur J Appl Physiol* 2001;86(2):142-9.

Castell L, Vance C, Abbott R, Marquez J, Eggleton P. Granule localization of glutaminase in human neutrophils and the consequence of glutamine utilization for neutrophil activity. *J Biol Chem* 2004;279: 13305-13310.

Castell L. Glutamine supplementation in vitro and in vivo, in exercise and in immunodepression. *Sports Med* 2003;33(5):323-45.

Castell LM, Newsholme EA. The relation between glutamine and the immunodepression observed in exercise. *Amino Acids* 2001;20(1):49-61.

Castell LM, Newsholme EA. Glutamine and the effects of exhaustive exercise upon the immune response. *Can J Physiol Pharmacol* 1998;76(5):524-32.

Castell LM, Newsholme EA. The effects of oral glutamine supplementation on athletes after prolonged, exhaustive exercise. *Nutrition* 1997;13(7-8):738-42.

Castellino P, DeFronzo RA. Glucose metabolism and the kidney. *Semin Nephrol* 1990;10(5):458-63.

Cavaglieri CR, Martins EF, Colleone VV, Rodrigues C, Vecchia MG, Curi R. Fiber-rich diets alter rat intestinal leukocytes metabolism. *J Nutr Biochem* 2000;11(11-12):555-561.

Ceddia RB, Lopes G, Souza HM, Borba-Murad GR, William WN, Jr., Bazotte RB, et al. Acute effects of leptin on glucose metabolism of in situ rat perfused livers and isolated hepatocytes. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1999;23(11):1207-12.

Cersosimo E, Judd RL, Miles JM. Insulin regulation of renal glucose metabolism in conscious dogs. *J Clin Invest* 1994;93(6):2584-9.

Chamari K, Hachana Y, Kaouech F, Jeddi R, Moussa-Chamari I, Wisloff U. Endurance training and testing with the ball in young elite soccer players. *Br J Sports Med* 2005;39(1):24-8.

Chamari K, Moussa-Chamari I, Boussaidi L, Hachana Y, Kaouech F, Wisloff U. Appropriate interpretation of aerobic capacity: allometric scaling in adult and young soccer players. *Br J Sports Med* 2005;39(2):97-101.

Chamari, K; Hachana, Y; et . Field and laboratory testing in young elite soccer players *Bri J Sports Med* 2004; 38(2):191-196.

Chu EK, Ribeiro SP, Slutsky AS. Heat stress increases survival rates in lipopolysaccharide-stimulated rats. *Crit Care Med* 1997;25(10):1727-32.

Ciocca DR, Oesterreich S, Chamness GC, McGuire WL, Fuqua SA. Biological and clinical implications of heat shock protein 27,000 (Hsp27): a review. *J Natl Cancer Inst* 1993;85(19):1558-70.

Clark K. Nutritional guidance to soccer players for training and competition. *J Sports Sci* 1994;12 Spec No:S43-50.

Clarkson PM, Tremblay I. Exercise-induced muscle damage, repair, and adaptation in humans. *J Appl Physiol* 1988;65(1):1-6.

Colli, C. Biodisponibilidade de ferro em dieta region de São Paulo. Tese de doutorado, Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Univesidade de São Paulo;1988.

Conjard A, Brun V, Martin M, Baverel G, Ferrier B. Effect of starvation on glutamine ammoniagenesis and gluconeogenesis in isolated mouse kidney tubules. *Biochem J* 2002;368(Pt 1):301-8.

Cooney G, Curi R, Mitchelson A, Newsholme P, Simpson M, Newsholme EA. Activities of some key enzymes of carbohydrate, ketone body, adenosine and glutamine metabolism in liver, and brown and white adipose tissues of the rat. *Biochem Biophys Res Commun* 1986;138(2):687-92.

Costa, RF. Avaliando a composição corporal. In: HIRSCHBRUCH MD. & CARVHO, JR. *Nutrição esportiva: uma visão prática*. Barueri, Manole; 2002.

Costa Rosa LF, Safi DA, Cury Y, Curi R. The effect of insulin on macrophage metabolism and function. *Cell Biochem Funct* 1996;14(1):33-42.

Costa Rosa LF, Curi R, Murphy C, Newsholme P. Effect of adrenaline and phorbol myristate acetate or bacterial lipopolysaccharide on stimulation of pathways of macrophage glucose, glutamine and O₂ metabolism. Evidence for cyclic AMP-dependent protein kinase mediated inhibition of glucose-6-phosphate dehydrogenase and activation of NADP⁺-dependent 'malic' enzyme. *Biochem J* 1995;310 (Pt 2):709-14.

- Costa Rosa LF, Safi DA, Curi R. Effect of thioglycollate and BCG stimuli on glucose and glutamine metabolism in rat macrophages. *J Leukoc Biol* 1994;56(1):10-4.
- Costa Rosa LF, Cury Y, Curi R. Hormonal control of macrophage function and glutamine metabolism. *Biochem Cell Biol* 1991;69(4):309-12.
- Costill DL, Hargreaves M. Carbohydrate nutrition and fatigue. *Sports Med* 1992;13(2):86-92.
- Costill DL, Verstappen F, Kuipers H, Janssen E, Fink W. Acid-base balance during repeated bouts of exercise: influence of HCO₃. *Int J Sports Med* 1984;5(5):228-31.
- Couzy F, Mansourian R, Labate A, Guinchard S, Montagne DH, Dirren H. Effect of dietary phytic acid on zinc absorption in the healthy elderly, as assessed by serum concentration curve tests. *Br J Nutr* 1998;80(2):177-82.
- Cox G, Mujika I, Tumilty D, Burke L. Acute creatine supplementation and performance during a field test simulating match play in elite female soccer players. *Int J Sport Nutr Exerc Metab* 2002;12(1):33-46.
- Cozzolino, S.M.F. Biodisponibilidade de Nutrientes. São Paulo, Manole; 2005.
- Curi R, Lagranha CJ, Doi SQ, Sellitti DF, Procopio J, Pithon-Curi TC. Glutamine-dependent changes in gene expression and protein activity. *Cell Biochem Funct* 2005a;23(2):77-84.
- Curi R, Lagranha CJ, Doi SQ, Sellitti DF, Procopio J, Pithon-Curi TC, et al. Molecular mechanisms of glutamine action. *J Cell Physiol* 2005b; 204(2):392-401.
- Curi R. Glutamina: metabolismo e aplicações clínicas e no esporte. Rio de Janeiro: Sprint; 2000.
- Curi R, Newsholme P, Pithon-Curi TC, Pires-de-Melo M, Garcia C, Homem-de-Bittencourt Junior PI, et al. Metabolic fate of glutamine in lymphocytes, macrophages and neutrophils. *Braz J Med Biol Res* 1999c;32(1):15-21.
- Curi TC, de Melo MP, de Azevedo RB, Curi R. Glutamine utilization by rat neutrophils. *Biochem Soc Trans* 1997d;25(2):249S.
- Curi TC, de Melo MP, de Azevedo RB, Zorn TM, Curi R. Glutamine utilization by rat neutrophils: presence of phosphate-dependent glutaminase. *Am J Physiol* 1997e;273(4 Pt 1):C1124-9.
- Curi R, Bond JA, Calder PC, Newsholme EA. Propionate regulates lymphocyte proliferation and metabolism. *Gen Pharmacol* 1993f;24(3):591-7.

- Curi R, Newsholme EA. The effect of adenine nucleotides on the rate and fate of glutamine utilization by incubated mitochondria isolated from rat mesenteric lymph nodes. *Mol Cell Biochem* 1989g;86(1):71-6.
- Curi R, Williams JF, Newsholme EA. Formation of ketone bodies by resting lymphocytes. *Int J Biochem* 1989h;21(10):1133-6.
- Curi R. Does PEPCK play a key role in amino acid oxidation? *Braz J Med Biol Res* 1988i;21(1):27-30.
- Curi R, Newsholme P, Newsholme EA. Metabolism of pyruvate by isolated rat mesenteric lymphocytes, lymphocyte mitochondria and isolated mouse macrophages. *Biochem J* 1988j;250(2):383-8.
- Curi R, Newsholme P, Newsholme EA. Intracellular distribution of some enzymes of the glutamine utilisation pathway in rat lymphocytes. *Biochem Biophys Res Commun* 1986k;138(1):318-22.
- Curthoys NP, Watford M. Regulation of glutaminase activity and glutamine metabolism. *Annu Rev Nutr* 1995;15:133-59.
- De Azevedo RB, Rosa LF, Lacava ZG, Curi R. Gonadectomy impairs lymphocyte proliferation and macrophage function in male and female rats. Correlation with key enzyme activities of glucose and glutamine metabolism. *Cell Biochem Funct* 1997;15(4):293-8.
- De Maio A. Heat shock proteins: facts, thoughts, and dreams. *Shock* 1999; 11(1):1-12.
- De Melo MP, Pithon-Curi TC, Curi R. Indole-3-acetic acid increases glutamine utilization by high peroxidase activity-presenting leukocytes. *Life Sci* 2004;75(14):1713-25.
- Denis C, Fouquet R, Poty P, Geyssant A, and Lacour JR. (1982). Effect of 40 weeks of endurance training on the anaerobic threshold. *Int J Sports Med* 3: 208-214, 1982.
- De Souza HM, Borba-Murad GR, Ceddia RB, Curi R, Vardanega-Peicher M, Bazotte RB. Rat liver responsiveness to gluconeogenic substrates during insulin-induced hypoglycemia. *Braz J Med Biol Res* 2001;34(6):771-7.
- Denis C, Fouquet R, Poty P, Geyssant A, Lacour JR. Effect of 40 weeks of endurance training on the anaerobic threshold. *Int J Sports Med* 1982; 3(4):208-14.
- Diaz-Araya G, Godoy L, Naranjo L, Squella JA, Letelier ME, Nunez-Vergara LJ. Antioxidant effects of 1,4-dihydropyridine and nitroso aryl derivatives on the Fe+3/ascorbate-stimulated lipid peroxidation in rat brain slices. *Gen Pharmacol* 1998;31(3):385-91.

- Dimski DS. Ammonia metabolism and the urea cycle: function and clinical implications. *J Vet Intern Med* 1994;8(2):73-8.
- Dixon CB, Robertson RJ, Goss FL, Timmer JM, Nagle EF, Evans RW. The effect of acute resistance exercise on serum malondialdehyde in resistance-trained and untrained collegiate men. *J Strength Cond Res* 2006;20(3):693-8.
- Dos Santos Cunha WD, Giampietro MV, De Souza DF, Vaisberg M, Seelaender MC, Rosa LF. Exercise restores immune cell function in energy-restricted rats. *Med Sci Sports Exerc* 2004;36(12):2059-64.
- dos Santos MA, Borges JB, de Almeida DC, Curi R. Metabolism of the microregions of human breast cancer. *Cancer Lett* 2004;216(2):243-8.
- dos-Santos MA, Rosa R, Curi R, Barbieri DH. Effect of protein malnutrition on the glycolytic and glutaminolytic enzyme activity of rat thymus and mesenteric lymph nodes. *Braz J Med Biol Res* 1997;30(6):719-22.
- Driskell, JA, Wolinsky, I. Nutritional assessment of athletes. New York: CRC Press LLC; 2002.
- Economos CD, Bortz SS, Nelson ME. Nutritional practices of elite athletes. Practical recommendations. *Sports Med* 1993;16(6):381-99.
- Eklom B. Applied physiology of soccer. *Sports Med* 1986;3(1):50-60.
- Ellis RJ, Hartl FU. Protein folding in the cell: competing models of chaperonin function. *Faseb J* 1996;10(1):20-6.
- Ellis J. Proteins as molecular chaperones. *Nature* 1987;328(6129):378-9.
- Esbjornsson M, Bulow J, Norman B, Simonsen L, Nowak J, Rooyackers O, et al. Adipose tissue extracts plasma ammonia after sprint exercise in women and men. *J Appl Physiol* 2005.
- Evans, WJ, Lambert, CP. Physiological Basis of Fatigue. *Am J Phys Med Rehabil* 2007;86(Suppl):S29–S46.
- Exton JH. Gluconeogenesis. *Metabolism* 1972;21(10):945-90.
- Farrell PA, Wilmore JH, Coyle EF, Billing JE, Costill DL. Plasma lactate accumulation and distance running performance. *Med Sci Sports* 1979; 11(4):338-44.
- Febbraio MA, Koukoulas I. HSP72 gene expression progressively increases in human skeletal muscle during prolonged, exhaustive exercise. *J Appl Physiol* 2000;89(3):1055-60.

Fehrenbach E, Niess AM, Schlotz E, Passek F, Dickhuth HH, Northoff H. Transcriptional and translational regulation of heat shock proteins in leukocytes of endurance runners. *J Appl Physiol* 2000;89(2):704-10.

Fehrenbach E, Passek F, Niess AM, Pohla H, Weinstock C, Dickhuth HH, et al. HSP expression in human leukocytes is modulated by endurance exercise. *Med Sci Sports Exerc* 2000;32(3):592-600.

Feige, U. and B. S. Polla. Hsp70--a multi-gene, multi-structure, multi-function family with potenti clinic applications. *Experientia* 1994;50(11-12): 979-86.

Fernandes LC, Mattozo CA, Machado UF, Rosa LF, Curi R. Insulin treatment can abolish changes in glucose and glutamine metabolism of lymphocytes and macrophages caused by the implantation of the Walker 256 tumour. *Cell Biochem Funct* 1996;14(3):187-92.

Fernandes LC, Marques-da-Costa MM, Curi R. Metabolism of glucose, glutamine and pyruvate in lymphocytes from Walker 256 tumor-bearing rats. *Braz J Med Biol Res* 1994;27(11):2539-43.

Ferreira EB, Ceddia RB, Curi R, Alonso MI, Lopes G, Bazotte RB. Swimming-exercise increases the capacity of perfused rat liver to produce urea from ammonia and L-glutamine. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol* 1998;102(3):289-303.

Filaire E, Lac G, Pequignot JM. Biological, hormonal, and psychological parameters in professional soccer players throughout a competitive season. *Percept Mot Skills* 2003;97(3 Pt 2):1061-72.

Finaud J, Lac G, Filaire E. Oxidative stress: relationship with exercise and training. *Sports Med* 2006;36(4):327-58.

Fleg JL, Pina IL, Balady GJ, Chaitman BR, Fletcher B, Lavie C, et al. Assessment of functional capacity in clinical and research applications: An advisory from the Committee on Exercise, Rehabilitation, and Prevention, Council on Clinical Cardiology, American Heart Association. *Circulation* 2000;102(13):1591-7.

Friedl KE, Moore RJ, Hoyt RW, Marchitelli LJ, Martinez-Lopez LE, Askew EW. Endocrine markers of semistarvation in healthy lean men in a multistressor environment. *J Appl Physiol* 2000;88(5):1820-30.

Furst P. New developments in glutamine delivery. *J Nutr* 2001;131(9 Suppl):2562S-8S.

Furst P, Stehle P. [Glutamine supplemented nutrition in clinical practice--use of glutamine-containing dipeptides]. *Infusionsther Transfusionsmed* 1995; 22(5):317-24.

- Furst P, Albers S, Stehle P. Glutamine-containing dipeptides in parenteral nutrition. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 1990;14(4 Suppl):118S-124S.
- Gambke B, Berg A, Fabian K, Francaux M, Lormes W, Haber P, et al. Multicenter evaluation of a new portable system for determining blood lactate. *MED SCI SPORTS EXERC* 1994; 26 (Suppl.5): 242.
- Garcia C, de Oliveira MC, Verlengia R, Curi R, Pithon-Curi TC. Effect of dexamethasone on neutrophil metabolism. *Cell Biochem Funct* 2003; 21(2):105-11.
- Garcia C, Pithon-Curi TC, de Lourdes Firmano M, Pires de Melo M, Newsholme P, Curi R. Effects of adrenaline on glucose and glutamine metabolism and superoxide production by rat neutrophils. *Clin Sci (Lond)* 1999;96(6):549-55.
- Gazola VA, Lopes G, Dias RM, Curi R, Bazotte RB. Comparative effects of diet supplementation with l-carnitine and dl-carnitine on ammonia toxicity and hepatic metabolism in rats. *Acta Pharmacol Sin* 2001;22(4):305-10.
- Gerich JE. Control of glycaemia. *Baillieres Clin Endocrinol Metab* 1993; 7(3):551-86.
- Gjovaag TF, Vikne H, Dahl HA. Effect of concentric or eccentric weight training on the expression of heat shock proteins in m. biceps brachii of very well trained males. *Eur J Appl Physiol* 2006;96(4):355-62.
- Glaister M. Multiple sprint work: physiological responses, mechanisms of fatigue and the influence of aerobic fitness. *Sports Med* 2005;35(9):757-77.
- Gleeson M. Immune system adaptation in elite athletes . *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2006;9(6):659-65.
- Gleeson M. Can nutrition limit exercise-induced immunodepression? *Nutr Rev* 2006;64(3):119-31.
- Gleeson M, Nieman DC, Pedersen BK. Exercise, nutrition and immune function. *J Sports Sci* 2004;22(1):115-25.
- Guimaraes AR, Kuga E, Torres RP, Colquhoun A, Curi R, Mancini Filho J. Composition of fatty acids in the liver and lymphoid organs of rats fed fatty acid-rich diets. *Biochem Mol Biol Int* 1995;36(2):451-61.
- Guimaraes AR, Sitnik RH, Curi CM, Curi R. Metabolic changes in lymphoid organs as induced by fatty acids-rich diets during ageing. *Physiol Behav* 1994;55(4):691-7.
- Guimaraes AR, Costa-Rosa LF, Safi DA, Curi R. Effect of a polyunsaturated fatty acid-rich diet on macrophage and lymphocyte metabolism of diabetic rats. *Braz J Med Biol Res* 1993;26(8):813-8.

- Haber P, Silberbauer K, Sinzinger H. [Quantitative studies on reversible thrombocyte aggregation during exertion]. *Schweiz Med Wochenschr* 1980; 110(41):1488-91.
- Halson SL, Jeukendrup AE. Does overtraining exist? An analysis of overreaching and overtraining research. *Sports Med* 2004;34(14):967-81.
- Hamilton AL, Nevill ME, Brooks S, Williams C. Physiological responses to maximal intermittent exercise: differences between endurance-trained runners and games players. *J Sports Sci* 1991;9(4):371-82.
- Hargreaves M. Carbohydrate and lipid requirements of soccer. *J Sports Sci* 1994;12 Spec No:S13-6.
- Haub MD, Pottleiger JA, Nau KL, Webster MJ, Zebas CJ. Acute L-glutamine ingestion does not improve maximal effort exercise. *J Sports Med Phys Fitness* 1998;38(3):240-4.
- Haussinger D, Roth E, Lang F, Gerok W. Cellular hydration state: an important determinant of protein catabolism in health and disease. *Lancet* 1993;341(8856):1330-2.
- Haussinger D, Steeb R, Kaiser S, Wettstein M, Stoll B, Gerok W. Nitrogen metabolism in normal and cirrhotic liver. *Adv Exp Med Biol* 1990;272:47-64.
- Hawley JA, Tipton KD, Millard-Stafford ML. Promoting training adaptations through nutritional interventions. *J Sports Sci* 2006;24(7):709-21.
- Hawley JA, Dennis SC, Noakes TD. Carbohydrate, fluid, and electrolyte requirements of the soccer player: a review. *Int J Sport Nutr* 1994; 4(3):221-36.
- Heck H, Mader A, Hess G, Mucke S, Muller R, Hollmann W. Justification of the 4-mmol/l lactate threshold. *Int J Sports Med*. 1985 Jun;6(3):117-30. No abstract available
- Helgerud J, Engen LC, Wisloff U, Hoff J. Aerobic endurance training improves soccer performance. *Med Sci Sports Exerc* 2001;33(11):1925-31.
- Hiscock N, Petersen EW, Krzywkowski K, Boza J, Halkjaer-Kristensen J, Pedersen BK. Glutamine supplementation further enhances exercise-induced plasma IL-6. *J Appl Physiol* 2003;95(1):145-8.
- Hoff J, Wisloff U, Engen LC, Kemi OJ, Helgerud J. Soccer specific aerobic endurance training. *Br J Sports Med* 2002;36(3):218-21.
- Hoff J, Helgerud J, Wisloff U. Maximal strength training improves work economy in trained female cross-country skiers. *Med Sci Sports Exerc* 1999; 31(6):870-7.

- Hortelano P, Lupianez JA, Barnswell J, Sanchez-Pozo A, McFarlane-Anderson N, Alleyne GA. Renal ammoniogenesis in rats made acutely acidotic by swimming. *Horm Metab Res* 1984;16(7):370-3.
- Hurley BF, Seals DR, Ehsani AA, Cartier LJ, Dalsky GP, Hagberg JM, et al. Effects of high-intensity strength training on cardiovascular function. *Med Sci Sports Exerc* 1984;16(5):483-8.
- Iglesias-Gutierrez E, Garcia-Roves PM, Rodriguez C, Braga S, Garcia-Zapico P, Patterson AM. Food habits and nutritional status assessment of adolescent soccer players. A necessary and accurate approach. *Can J Appl Physiol* 2005;30(1):18-32.
- Jaattela M, Wissing D. Emerging role of heat shock proteins in biology and medicine. *Ann Med* 1992;24(4):249-58.
- Jepson MM, Bates PC, Broadbent P, Pell JM, Millward DJ. Relationship between glutamine concentration and protein synthesis in rat skeletal muscle. *Am J Physiol* 1988;255(2 Pt 1):E166-72.
- Ji LL. Antioxidants and oxidative stress in exercise. *Proc Soc Exp Biol Med* 1999;222(3):283-92.
- Joseph SK, McGivan JD. The effects of ammonium chloride and bicarbonate on the activity of glutaminase in isolated liver mitochondria. *Biochem J*. 1978;17(3):837-44.
- Joint Position Statement: nutrition and athletic performance. American College of Sports Medicine, American Dietetic Association, and Dietitians of Canada. *Med Sci Sports Exerc* 2000;32(12): 2130-45.
- Karakoc Y, Duzova H, Polat A, Emre MH, Arabaci I. Effects of training period on haemorheological variables in regularly trained footballers. *Br J Sports Med* 2005;39(2):e4.
- Kargotich S, Keast D, Goodman C, Bhagat CI, Joske DJ, Dawson B, et al. Monitoring 6 Weeks of Progressive Endurance Training with Plasma Glutamine. *Int J Sports Med* 2006.
- Kemi OJ, Hoff J, Engen LC, Helgerud J, Wisloff U. Soccer specific testing of maximal oxygen uptake. *J Sports Med Phys Fitness* 2003;43(2):139-44.
- Kida K, Nakajo S, Kamiya F, Toyama Y, Nishio T, Nakagawa H. Renal net glucose release in vivo and its contribution to blood glucose in rats. *J Clin Invest* 1978;62(4):721-6.
- Kirkendall DT. Effects of nutrition on performance in soccer. *Med Sci Sports Exerc* 1993;25(12):1370-4.

Klassen P, Mazariegos M, Solomons NW, Furst P. The pharmacokinetic responses of humans to 20 g of alanyl-glutamine dipeptide differ with the dosing protocol but not with gastric acidity or in patients with acute Dengue fever. *J Nutr* 2000;130(2):177-82.

Kowalchuk JM, Curi R, Newsholme EA. Glutamine metabolism in isolated incubated adipocytes of the rat. *Biochem J* 1988;249(3):705-8.

Krebs HA, Bennett DA, De Gasquet P, Gasquet P, Gascoyne T, Yoshida T. Renal gluconeogenesis. The effect of diet on the gluconeogenic capacity of rat-kidney-cortex slices. *Biochem J* 1963;86:22-7.

Lacey JM, Wilmore DW. Is glutamine a conditionally essential amino acid? *Nutr Rev* 1990;48(8):297-309.

Lagranha CJ, de Lima TM, Senna SM, Doi SQ, Curi R, Pithon-Curi TC. The effect of glutamine supplementation on the function of neutrophils from exercised rats. *Cell Biochem Funct* 2005;23(2):101-7.

Lagranha CJ, Senna SM, de Lima TM, Silva EP, Doi SQ, Curi R, et al. Beneficial effect of glutamine on exercise-induced apoptosis of rat neutrophils. *Med Sci Sports Exerc* 2004;36(2):210-7.

Landau BR, Wahren J, Chandramouli V, Schumann WC, Ekberg K, Kalhan SC. Contributions of gluconeogenesis to glucose production in the fasted state. *J Clin Invest* 1996;98(2):378-85.

Leatt PB, Jacobs I. Effect of glucose polymer ingestion on glycogen depletion during a soccer match. *Can J Sport Sci* 1989;14(2):112-6.

Leeuwenburgh C, Hansen PA, Holloszy JO, Heinecke JW. Hydroxyl radical generation during exercise increases mitochondrial protein oxidation and levels of urinary dityrosine. *Free Radic Biol Med* 1999;27(1-2):186-92.

Lehnhart RA, Lehnhart HR, Young R, et al. Monitoring injuries on a college soccer team: the effect of strength training. *J Strength Cond Res* 1996; 10 (2): 115-9.

Leighton, B., R. Curi, et al. Maximum activities of some key enzymes of glycolysis, glutaminolysis, Krebs cycle and fatty acid utilization in bovine pulmonary endothelial cells. *FEBS Lett* 1987;225(1-2): 93-6.

Leighton B, Curi R, Hussein A, Newsholme EA. Maximum activities of some key enzymes of glycolysis, glutaminolysis, Krebs cycle and fatty acid utilization in bovine pulmonary endothelial cells. *FEBS Lett* 1987;225(1-2):93-6.

Lescano-De-Souza A, Jr., Curi R. Cholesterol inhibits glutamine metabolism in LLC WRC256 tumour cells but does not affect it in lymphocytes: possible implications for tumour cell proliferation. *Cell Biochem Funct* 1999;17(4):223-8.

- Lopes G, Gazola VA, Galende SB, Alves-do-prado W, Curi R, Bazotte RB. Comparative acute effects of L-carnitine and DL-carnitine on hepatic catabolism of L-alanine and L-glutamine in rats. *Acta Pharmacol Sin* 2004; 25(10):1257-61.
- McCarthy DA, Dale MM. The leucocytosis of exercise. A review and model. *Sports Med* 1988;6(6):333-63.
- McIntyre MC, Hall M. Physiological profile in relation to playing position of elite college Gaelic footballers. *Br J Sports Med* 2005;39(5):264-6.
- Malm C, Ekblom O, Ekblom B. Immune system alteration in response to two consecutive soccer games. *Acta Physiol Scand* 2004;180(2):143-55.
- Maughan RJ. Energy and macronutrient intakes of professional football (soccer) players. *Br J Sports Med* 1997;31(1):45-7.
- McGuinness OP, Fugiwara T, Murrell S, Bracy D, Neal D, O'Connor D, et al. Impact of chronic stress hormone infusion on hepatic carbohydrate metabolism in the conscious dog. *Am J Physiol* 1993;265(2 Pt 1):E314-22.
- McKenzie DC. Markers of excessive exercise. *Can J Appl Physiol* 1999; 24(1):66-73.
- McMillan K, Helgerud J, Grant SJ, Newell J, Wilson J, Macdonald R, et al. Lactate threshold responses to a season of professional British youth soccer. *Br J Sports Med* 2005;39(7):432-6.
- Margaritis I, Tessier F, Richard MJ, Marconnet P. No evidence of oxidative stress after a triathlon race in highly trained competitors. *Int J Sports Med* 1997;18(3):186-90.
- Mates JM, Perez-Gomez C, Nunez de Castro I, Asenjo M, Marquez J. Glutamine and its relationship with intracellular redox status, oxidative stress and cell proliferation/death. *Int J Biochem Cell Biol* 2002;34(5):439-58.
- Maughan RJ, Gleeson M. Influence of a 36 h fast followed by refeeding with glucose, glycerol or placebo on metabolism and performance during prolonged exercise in man. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 1988;57(5):570-6.
- Meyer TN, da Silva AL. [Cell response to stress]. *Rev Assoc Med Bras* 1999; 45(2):181-8.
- Mitchell JB, Pizza FX, Paquet A, Davis BJ, Forrest MB, Braun WA. Influence of carbohydrate status on immune responses before and after endurance exercise. *J Appl Physiol* 1998;84(6):1917-25.

Modlesky, CM., Lewis, RD. Assessment of body size and composition. In: ROSENBLOOM, C. Sports Nutrition: a guide for the profession working with active people. 3 ed. The American Dietetic Association;2000.

Moffatt RJ, Chitwood LF, Biggerstaff KD. The influence of verbal encouragement during assessment of maximal oxygen uptake. *J Sports Med Phys Fitness* 1994;34(1):45-9.

Mohr M, Krustup P, Bangsbo J. Match performance of high-standard soccer players with special reference to development of fatigue. *J Sports Sci* 2003;21(7):519-28.

Mujika I, Padilla S. Creatine supplementation as an ergogenic acid for sports performance in highly trained athletes: a critical review. *Int J Sports Med* 1997;18(7):491-6.

Naik J, Snyder AC, Welsh R, Hyatt K. Validity and reliability of accusport lactate monitor. *MED SCI SPORTS EXERC* 1996;28 (Suppl.5):66.

Nazar K, Dobrzynski B, Lewicki R. Relationship between plasma ammonia and blood lactate concentrations after maximal treadmill exercise in circumpubertal girls and boys. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 1992; 65(3):246-50.

Neu J, Shenoy V, Chakrabarti R. Glutamine nutrition and metabolism: where do we go from here? *Faseb J* 1996;10(8):829-37.

Newsholme P, Brennan L, Rubi B, Maechler P. New insights into amino acid metabolism, beta-cell function and diabetes. *Clin Sci (Lond)* 2005; 108(3):185-94.

Newsholme P, Lima MM, Procopio J, Pithon-Curi TC, Doi SQ, Bazotte RB, et al. Glutamine and glutamate as vital metabolites. *Braz J Med Biol Res* 2003; 36(2):153-63.

Newsholme P, Procopio J, Lima MM, Pithon-Curi TC, Curi R. Glutamine and glutamate--their central role in cell metabolism and function. *Cell Biochem Funct* 2003;21(1):1-9.

Newsholme P, Curi R, Pithon Curi TC, Murphy CJ, Garcia C, Pires de Melo M. Glutamine metabolism by lymphocytes, macrophages, and neutrophils: its importance in health and disease. *J Nutr Biochem* 1999;10(6):316-24.

Newsholme EA, Calder PC. The proposed role of glutamine in some cells of the immune system and speculative consequences for the whole animal. *Nutrition* 1997;13(7-8):728-30.

Newsholme EA. The possible role of glutamine in some cells of the immune system and the possible consequence for the whole animal. *Experientia* 1996;52(5):455-9.

- Newsholme EA, Newsholme P, Curi R. The role of the citric acid cycle in cells of the immune system and its importance in sepsis, trauma and burns. *Biochem Soc Symp* 1987;54:145-62.
- Newsholme P, Curi R, Gordon S, Newsholme EA. Metabolism of glucose, glutamine, long-chain fatty acids and ketone bodies by murine macrophages. *Biochem J* 1986;239(1):121-5.
- Nieman DC. Exercise immunology: nutritional countermeasures. *Can J Appl Physiol* 2001;26 Suppl:S45-55.
- Nurjhan N, Consoli A, Gerich J. Increased lipolysis and its consequences on gluconeogenesis in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *J Clin Invest* 1992;89(1):169-75.
- Ohtake Y, Clemens MG. Interrelationship between hepatic ureagenesis and gluconeogenesis in early sepsis. *Am J Physiol* 1991;260(3 Pt 1):E453-8.
- Ostojic SM. Creatine supplementation in young soccer players. *Int J Sport Nutr Exerc Metab* 2004;14(1):95-103.
- Ostojic, SM. Season terations and body composition and sprint performance of elite soccer players. *JEPonline* 2003;6(3): 24-27.
- Otton R, Mendonca JR, Curi R. Diabetes causes marked changes in lymphocyte metabolism. *J Endocrinol* 2002;174(1):55-61.
- Otton R, Graziola F, Souza JA, Curi TC, Hirata MH, Curi R. Effect of dietary fat on lymphocyte proliferation and metabolism. *Cell Biochem Funct* 1998;16(4):253-9.
- Pan M, Meng Q, Choudry HA, Karinch AM, Lin C, Souba WW. Stimulation of intestinal glutamine absorption in chronic metabolic acidosis. *Surgery* 2004;136(2):127-34.
- Parkin JA, Carey MF, Martin IK, Stojanovska L, Febbraio MA. Muscle glycogen storage following prolonged exercise: effect of timing of ingestion of high glycemic index food. *Med Sci Sports Exerc* 1997;29(2):220-4.
- Parry-Billings M, Blomstrand E, McAndrew N, Newsholme EA. A communicational link between skeletal muscle, brain, and cells of the immune system. *Int J Sports Med* 1990;11 Suppl 2:S122-8.
- Parry-Billings M, Budgett R, Koutedakis Y, Blomstrand E, Brooks S, Williams C, et al. Plasma amino acid concentrations in the overtraining syndrome: possible effects on the immune system. *Med Sci Sports Exerc* 1992;24(12):1353-8.

- Parry-Billings M, Leighton B, Dimitriadis GD, Curi R, Bond J, Bevan S, et al. The effect of tumour bearing on skeletal muscle glutamine metabolism. *Int J Biochem* 1991;23(9):933-7.
- Pate RR, Kriska A. Physiological basis of the sex difference in cardiorespiratory endurance. *Sports Med* 1984;1(2):87-98.
- Pelham HR. Speculations on the functions of the major heat shock and glucose-regulated proteins. *Cell* 1986;46(7):959-61.
- Peres, Fabiano Pinheiro. Efeitos da Suplementação de Glutamina Peptídeo e Carboidratos na Performance de Triatletas de Alto Nível (tese de mestrado). Piracicaba: Universidade Metodista de Piracicaba – Faculdade de Ciências da Saúde; 2004.
- Periago, M.J. et al. Reduction of the phytate content of bran by leavening in bread and its effect on zinc absorption in man. *Food Res. Int.* 1997;30(3/4): 223-30.
- Pithon-Curi TC, De Melo MP, Curi R. Glucose and glutamine utilization by rat lymphocytes, monocytes and neutrophils in culture: a comparative study. *Cell Biochem Funct* 2004;22(5):321-6.
- Pithon-Curi TC, Schumacher RI, Freitas JJ, Lagranha C, Newsholme P, Palanch AC, et al. Glutamine delays spontaneous apoptosis in neutrophils. *Am J Physiol Cell Physiol* 2003;284(6):C1355-61.
- Pithon-Curi TC, Levada AC, Lopes LR, Doi SQ, Curi R. Glutamine plays a role in superoxide production and the expression of p47phox, p22phox and gp91phox in rat neutrophils. *Clin Sci (Lond)* 2002;103(4):403-8.
- Pithon-Curi TC, Trezena AG, Tavares-Lima W, Curi R. Evidence that glutamine is involved in neutrophil function. *Cell Biochem Funct* 2002; 20(2):81-6.
- Pompeia C, Lopes LR, Miyasaka CK, Procopio J, Sannomiya P, Curi R. Effect of fatty acids on leukocyte function. *Braz J Med Biol Res* 2000; 33(11):1255-68.
- Poortmans JR, Siest G, Galteau MM, Houot O. Distribution of plasma amino acids in humans during submaximal prolonged exercise. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 1974;32(2):143-7.
- Prosky L. What is dietary fibre? New look at the definition. In: MCCLEARY, B.B. & PROSKY, L. *Advanced Dietary Fibre Technology*. Londres: Blackwell Science; 2001, p63-76.
- Pyne DB, Gardner AS, Sheehan K, Hopkins WG. Positional differences in fitness and anthropometric characteristics in Australian football. *J Sci Med Sport* 2006;9(1-2):143-50.

Quindry JC, Stone WL, King J, Broeder CE. The effects of acute exercise on neutrophils and plasma oxidative stress. *Med Sci Sports Exerc* 2003; 35(7):1139-45.

Ramos Lima MM, de Mello MA, Curi R. Walker 256 tumour growth causes marked changes of glutamine metabolism in rat small intestine. *Cell Biochem Funct* 2002;20(2):107-13.

Ramsbottom R, Williams C, Fleming N, Nute ML. Training induced physiological and metabolic changes associated with improvements in running performance. *Br J Sports Med* 1989;23(3):171-6.

Ravier G, Dugue B, Grappe F, Rouillon JD. Maximal accumulated oxygen deficit and blood responses of ammonia, lactate and pH after anaerobic test: a comparison between international and national elite karate athletes. *Int J Sports Med* 2006;27(10):810-7.

Reid MB, Haack KE, Franchek KM, Valberg PA, Kobzik L, West MS. Reactive oxygen in skeletal muscle. I. Intracellular oxidant kinetics and fatigue in vitro. *J Appl Physiol* 1992;73(5):1797-804.

Reilly T. Energetics of high-intensity exercise (soccer) with particular reference to fatigue. *J Sports Sci* 1997;15(3):257-63.

Rienzi E, Drust B, Reilly T, Carter JE, Martin A. Investigation of anthropometric and work-rate profiles of elite South American international soccer players. *J Sports Med Phys Fitness* 2000;40(2):162-9.

Rogero MM, Tirapegui J, Pedrosa RG, Castro IA, Pires IS. Effect of alanyl-glutamine supplementation on plasma and tissue glutamine concentrations in rats submitted to exhaustive exercise. *Nutrition* 2006;22(5):564-71.

Rosa LF, Safi DA, Curi R. Effect of hypo- and hyperthyroidism on the function and metabolism of macrophages in rats. *Cell Biochem Funct* 1995; 13(2):141-7.

Rosa LF, de Almeida AF, Safi DA, Curi R. Thioglycollate stimulus modifies lymphocyte metabolism and proliferation. A comparison with lymphocyte activation by Walker 256 tumour implantation. *Cell Biochem Funct* 1993; 11(4):251-5.

Rosa LF, De Almeida AF, Safi DA, Curi R. Metabolic and functional changes in lymphocytes and macrophages as induced by ageing. *Physiol Behav* 1993;53(4):651-6.

Rosa LF, Guimaraes AR, Safi DA, Curi R, Williams JF. Effects of various dietary fatty acids on enzyme activities of carbohydrate and glutamine metabolism and the metabolic response of lymphocytes and macrophages during Walker-256 ascites cell tumour growth in rats. *Biochem Mol Biol Int* 1993;29(1):33-45.

Rosa LF, Cury Y, Curi R. Effects of insulin, glucocorticoids and thyroid hormones on the activities of key enzymes of glycolysis, glutaminolysis, the pentose-phosphate pathway and the Krebs cycle in rat macrophages. *J Endocrinol* 1992;135(2):213-9.

Ruiz F, Irazusta A, Gil S, Irazusta J, Casis L, Gil J. Nutritional intake in soccer players of different ages. *J Sports Sci* 2005;23(3):235-42.

Rutten EP, Engelen MP, Schols AM, Deutz NE. Skeletal muscle glutamate metabolism in health and disease: state of the art. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2005;8(1):41-51.

Rowbottom DG, Keast D, Morton AR. The emerging role of glutamine as an indicator of exercise stress and overtraining. *Sports Med* 1996;21(2):80-97.

Rowell LB. Muscle blood flow in humans: how high can it go ? *Med Sci Sports Exerc*.1988;20:S97–S103.

Rutten EP, Engelen MP, Schols AM, Deutz NE. Skeletal muscle glutamate metabolism in health and disease: state of the art. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2005;8(1):41-51.

Ryan AJ, Gisolfi CV, Moseley PL. Synthesis of 70K stress protein by human leukocytes: effect of exercise in the heat. *J Appl Physiol* 1991;70(1):466-71.

Sampaio SC, Brigatte P, Sousa-e-Silva MC, dos-Santos EC, Rangel-Santos AC, Curi R, et al. Contribution of crotoxin for the inhibitory effect of *Crotalus durissus terrificus* snake venom on macrophage function. *Toxicon* 2003;41(7):899-907.

Sampaio SC, Sousa-e-Silva MC, Borelli P, Curi R, Cury Y. *Crotalus durissus terrificus* snake venom regulates macrophage metabolism and function. *J Leukoc Biol* 2001;70(4):551-8.

Santos MF, Homem-de-Bittencourt Junior PI, Nunes FD, Curi R, Fava-de-Moraes F. Effect of aging on the glutaminase activity of neoplastic and immune tissues. *Braz J Med Biol Res* 1992;25(12):1197-207.

Schmidt JA, Abdulla E. Down-regulation of IL-1 beta biosynthesis by inducers of the heat-shock response. *J Immunol* 1988;141(6):2027-34.

Serrano MA, Curi R, Parry-Billings M, Williams JF, Newsholme EA. Effects of glucocorticoids on lymphocyte metabolism. *Am J Physiol* 1993;264(1 Pt 1):E24-8.

Shephard RJ. Adhesion molecules, catecholamines and leucocyte redistribution during and following exercise. *Sports Med* 2003;33(4):261-84.

Shephard RJ. Biology and medicine of soccer: an update. *J Sports Sci* 1999;17(10):757-86.

Shephard R. Muscle endurance and blood lactate. In: Shephard R & Astrand P (eds.) *Endurance in Sport*. Oxford: Blackwell Scientific Publication; 1992.

Shephard RJ. Meeting carbohydrate and fluid needs in soccer. *Can J Sport Sci* 1990;15(3):165-71.

Shephard RJ, Leatt P. Carbohydrate and fluid needs of the soccer player. *Sports Med* 1987;4(3):164-76.

Skelly RH, Bollheimer LC, Wicksteed BL, Corkey BE, Rhodes CJ. A distinct difference in the metabolic stimulus-response coupling pathways for regulating proinsulin biosynthesis and insulin secretion that lies at the level of a requirement for fatty acyl moieties. *Biochem J* 1998;331 (Pt 2):553-61.

Slater B, Marchioni DL, Fisberg RM. [Estimating prevalence of inadequate nutrient intake]. *Rev Saude Publica* 2004;38(4):599-605.

Smith DJ, Norris SR. Changes in glutamine and glutamate concentrations for tracking training tolerance. *Med Sci Sports Exerc* 2000;32(3):684-9.

Smolka MB, Zoppi CC, Alves AA, Silveira LR, Marangoni S, Pereira-Da-Silva L, et al. HSP72 as a complementary protection against oxidative stress induced by exercise in the soleus muscle of rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2000;279(5):R1539-45.

Souba WW. *Glutamine Physiology, Biochemistry, and Nutrition in Critical Illness*. Austin TX: R.G. Landes Co; 1992.

Souza HM, Borba-Murad GR, Curi R, Galletto R, Bazotte RB. Combined administration of glucose precursors is more efficient than that of glucose itself in recovery from hypoglycemia. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol* 2001;110(3-4):264-72.

Stolen T, Chamari K, Castagna C, Wisloff U. Physiology of soccer: an update. *Sports Med* 2005;35(6):501-36.

Stroyer J, Hansen L, Klausen K. Physiological profile and activity pattern of young soccer players during match play. *Med Sci Sports Exerc* 2004;36(1):168-74.

Stumvoll M, Perriello G, Meyer C, Gerich J. Role of glutamine in human carbohydrate metabolism in kidney and other tissues. *Kidney Int* 1999; 55(3):778-92.

Stumvoll M, Meyer C, Perriello G, Kreider M, Welle S, Gerich J. Human kidney and liver gluconeogenesis: evidence for organ substrate selectivity. *Am J Physiol* 1998;274(5 Pt 1):E817-26.

Stumvoll M, Chintalapudi U, Perriello G, Welle S, Gutierrez O, Gerich J. Uptake and release of glucose by the human kidney. Postabsorptive rates and responses to epinephrine. *J Clin Invest* 1995;96(5):2528-33.

Sue DY. Exercise testing in the evaluation of impairment and disability. *Clin Chest Med* 1994;15(2):369-87.

Sue DY. Integrative cardiopulmonary exercise testing: Basis and application. *Med Exerc Nutr Health* 1994; 3:32-55.

Suzuki K, Yamada M, Kurakake S, Okamura N, Yamaya K, Liu Q, et al. Circulating cytokines and hormones with immunosuppressive but neutrophil-priming potentials rise after endurance exercise in humans. *Eur J Appl Physiol* 2000;81(4):281-7.

Thompson HS, Maynard EB, Morales ER, Scordilis SP. Exercise-induced HSP27, HSP70 and MAPK responses in human skeletal muscle. *Acta Physiol Scand* 2003;178(1):61-72.

Thompson HS, Scordilis SP, Clarkson PM, Lohrer WA. A single bout of eccentric exercise increases HSP27 and HSC/HSP70 in human skeletal muscle. *Acta Physiol Scand* 2001;171(2):187-93.

Thorland WG, Johnson GO, Tharp GD, Housh TJ, Cisar CJ. Estimation of body density in adolescent athletes. *Hum Biol* 1984;56(3):439-48.

Tidball JG. Inflammatory cell response to acute muscle injury. *Med Sci Sports Exerc* 1995;27(7):1022-32.

Torre M, Rodriguez AR, Saura-Calixto F. Effects of dietary fiber and phytic acid on mineral availability. *Crit Rev Food Sci Nutr* 1991;30(1):1-22.

Tritschler, K. Medida e avaliação em educação física e esportes. 5 ed., Barueri, Manole; 2003.

Trumbo P, Schlicker S, Yates AA, Poos M. Dietary reference intakes for energy, carbohydrate, fiber, fat, fatty acids, cholesterol, protein and amino acids. *J Am Diet Assoc* 2002;102(11):1621-30.

Tumilty D. Physiological characteristics of elite soccer players. *Sports Med* 1993;16(2):80-96.

Ursini F, Vugman M, Fernandes LC, Curi CM, Curi R. Metabolic changes of several adipose depots as caused by aging. *Physiol Behav* 1991; 50(2):317-21.

Walsh NP, Whitham M. Exercising in Environmental Extremes: A Greater Threat to Immune Function? *Sports Med* 2006;36(11): 941-76.

Walsh NP, Blannin AK, Robson PJ, Gleeson M. Glutamine, exercise and immune function. Links and possible mechanisms. *Sports Med* 1998; 26(3):177-91.

Wang ZZ, Wang CL, Wu TC, Pan HN, Wang SK, Jiang JD. Autoantibody response to heat shock protein 70 in patients with heatstroke. *Am J Med* 2001;111(8):654-7.

Warych KA, Sabina TE, Moreau KL, Fischer KC, Kaminsky LA, Whaley MH. Evaluation of the Accusport blood lactate monitor. *Med Sci Sports Exerc* 1996; 28 (Suppl. 5): 19.

Wasserman DH, Williams PE, Lacy DB, Goldstein RE, Cherrington AD. Exercise-induced fall in insulin and hepatic carbohydrate metabolism during muscular work. *Am J Physiol* 1989;256(4 Pt 1):E500-9.

Weber KT, Janicki JS. Cardiopulmonary exercise testing for evaluation of chronic cardiac failure. *Am J Cardiol* 1985; 55:22A-31A.

Welsh RS, Davis JM, Burke JR, Williams HG. Carbohydrates and physical/mental performance during intermittent exercise to fatigue. *Med Sci Sports Exerc* 2002;34(4):723-31.

Welch WJ. Mammalian stress response: cell physiology, structure/function of stress proteins, and implications for medicine and disease. *Physiol Rev* 1992; 72(4):1063-81.

Werner MC, Costa Rosa LF, Romaldini JH, Curi R. Metabolism of glucose and glutamine in lymphocytes from Graves' hyperthyroid patients: influence of methimazole treatment. *Cell Biochem Funct* 1996;14(2):97-104.

Whitehead EN. Conditioning of sports. Yorkshire: E P Publishing Co. Ltd: 40-2;1975.

Wigglesworth JK, Lamere VJ, Rowland ND, Miller L. Examination of the reliability and validity of a new blood lactate analyzer. *MED SCI SPORTS EXERC* 1996; 28 (Suppl. 5): 10.

Wilmore DW. The effect of glutamine supplementation in patients following elective surgery and accidental injury. *J Nutr* 2001;131(9 Suppl):2543S-9S; discussion 2550S-1S.

Wilmore JH. Influence of motivation on physical work capacity and performance. *J Appl Physiol* 1968;24(4):459-63.

Wirthensohn G, Guder WG. Renal substrate metabolism. *Physiol Rev* 1986;66(2):469-97.

Wischmeyer PE. The glutamine story: where are we now? *Curr Opin Crit Care* 2006;12(2):142-8.

- Wischmeyer PE. Glutamine: the first clinically relevant pharmacological regulator of heat shock protein expression? *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2006;9(3):201-6.
- Wischmeyer PE. Glutamine: role in gut protection in critical illness. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2006;9(5):607-12.
- Wischmeyer PE. Glutamine and heat shock protein expression. *Nutrition* 2002;18(3):225-8.
- Wischmeyer PE, Kahana M, Wolfson R, Ren H, Musch MM, Chang EB. Glutamine induces heat shock protein and protects against endotoxin shock in the rat. *J Appl Physiol* 2001;90(6):2403-10.
- Withers RT, Roberts GD, Davies GJ. The maximum aerobic power, anaerobic power and body composition of South Australian male representatives in athletics, basketball, field hockey and soccer. *J Sports Med Phys Fitness* 1977;17(4):391-400.
- Yazbek Jr P, Camargo Jr PA, Kedor HH. Aspectos propedêuticos no uso da ergoespirometria. *Arq Bras Cardiol.* 1985; 4:291-95.
- Yoshimura A, Toyoda Y, Murakami T, Yoshizato H, Ando Y, Fujitsuka N. Glycogen depletion in intrafusal fibres in rats during short-duration high-intensity treadmill running. *Acta Physiol Scand* 2005;185(1):41-50.
- Young VR, Ajami AM. Glutamine: the emperor or his clothes? *J Nutr* 2001; 131(9 Suppl):2449S-59S; discussion 2486S-7S.
- Zacharias DP, Lima MM, Souza AL, Jr., de Abranches Oliveira Santos ID, Enokiara M, Michalany N, et al. Human cutaneous melanoma expresses a significant phosphate-dependent glutaminase activity: a comparison with the surrounding skin of the same patient. *Cell Biochem Funct* 2003;21(1):81-4.
- Zeederberg C, Leach L, Lambert EV, Noakes TD, Dennis SC, Hawley JA. The effect of carbohydrate ingestion on the motor skill proficiency of soccer players. *Int J Sport Nutr* 1996;6(4):348-55.
- Ziegler TR, Benfell K, Smith RJ, Young LS, Brown E, Ferrari-Baliviera E, et al. Safety and metabolic effects of L-glutamine administration in humans. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 1990;14(4 Suppl):137S-146S.

10. APÊNDICES

Apêndice 9.1. - Tabelas de inquéritos alimentares do jogadores no momento B (inquérito de 24h, inquérito habitual e as comparações entre os inquéritos de 24h e anamneses com a IDR e ACSM).

Tabela XVII - Inquérito de 24h. Levantamento do consumo alimentar em Kcal totais e do % de carboidratos, proteínas e lipídios, dos atletas estudados nas 24h antes dos teste, no momento B

Atletas	Calorias	% Carboidrato	% Proteína	% Lipídio
ADE	3632,2	67,3	13,6	19,1
BAQO	2685,9	51,0	14,4	34,6
BLC	3071,0	65,3	11,0	23,7
EMC	3912,1	48,0	11,4	40,6
ECJ	2492,9	24,9	31,3	43,8
EJSJ	1218,6	56,6	28,8	14,6
FSSL	3386,6	54,7	19,2	26,1
LBO	4461,7	50,1	10,2	39,7
MRO	4126,2	56,9	17,8	25,4
PL	2633,4	63,1	12,4	24,4
RBS	2861,1	53,4	13,2	33,5
TLP	1478,3	68,8	8,5	22,7
TZC	5334,1	68,2	10,1	21,7
WSB	2655,2	46,7	16,3	37,0
Média ± EPM	3139,2 ± 297,3	55,3 ± 3,1	15,62 ± 1,8	29,1 ± 2,4

Tabela XVIII - Inquérito de 24h. Levantamento do consumo alimentar de fibras, ácidos graxos e colesterol, dos atletas estudados nas 24h antes dos teste, no momento B

Atletas	Fibras (g)	A.G.Sat. (g)	A.G.Mono (g)	A.G.Poli. (g)	Colest. (mg)
ADE	11,0	0,4	1,2	218,4	41,7
BAQO	35,2	35,2	6,0	2,3	2,6
BLC	11,7	28,4	2,8	7,0	131,1
EMC	30,3	27,1	7,5	18,6	15,6
ECJ	3,0	29,8	30,7	4,4	489,1
EJSJ	10,0	4,3	5,2	6,0	196,6
FSSL	56,3	13,9	20,2	25,2	309,9
LBO	2,4	28,8	4,3	9,3	144,9
MRO	27,1	21,7	9,7	10,8	178,0
PL	1,3	17,7	4,4	1,6	85,6
RBS	42,6	22,9	5,4	13,6	143,8
TLP	0,8	0,7	1,2	2,9	0,0
TZC	49,6	33,2	14,8	27,7	186,8
WSB	11,2	28,8	3,6	8,9	131,3
Média ± EPM	20,9 ± 5,1	20,9 ± 3,2	8,3 ± 2,2	25,5 ± 15,0	146,9 ± 35,1

Tabela XIX - Inquérito de 24h. Levantamento do consumo alimentar de cálcio, ferro, sódio e cafeína, dos atletas estudados nas 24h antes dos teste, no momento B

Atletas	Cálcio (mg)	Ferro (mg)	Sódio (mg)
ADE	995,2	16,9	3884,4
BAQO	1068,7	11,6	1467,0
BLC	799,3	9,3	1747,3
EMC	266,0	12,2	2636,3
ECJ	477,8	21,8	2647,7
EJSJ	387,9	3,9	1871,4
FSSL	413,0	10,3	3391,3
LBO	1057,8	12,7	2174,3
MRO	392,7	23,1	2591,1
PL	841,7	7,9	1212,3
RBS	974,1	6,6	3809,5
TLP	250,3	3,8	805,0
TZC	960,3	12,3	4262,4
WSB	1327,5	10,5	1843,1
Média ± EPM	729,4 ± 94,3	11,6 ± 1,5	2453,1 ± 283,7

Tabela XX - Comparação do inquérito de 24h no momento B com os valores de referência IDR e ACSM

		Atletas	IDR		ACSM
			14-18	19-30	
Kcal		3139,2 ± 297,3			
% Carboidratos g/Kg/dia		55,3 ± 3,1 6,7	45-65	45-65	6 - 10
% Proteínas g/Kg/dia		15,6 ± 1,8 1,8	10-30*	10-35	 1,2-1,4
% Lipídios		29,1 ± 2,4	25-35	25-35	20-25
Fibras	(g)	20,9 ± 5,1	38	38	
Á.G.Satur.	(g)	20,9 ± 3,2			
A.G.Mono	(g)	8,3 ± 2,2			
A.G.Poli	(g)	25,5 ± 15,0			
Colesterol	(mg)	146,9± 35,1	< 300	< 300	
Cálcio	(mg)	729,4 ±94,3	1300	1000	
Ferro	(mg)	11,6 ± 1,5	11	8	
Sódio	(mg)	2453,1± 283,7	1,5	1,5	

*(4-18 anos)

Tabela XXI - Inquérito habitual. Levantamento do consumo alimentar habitual em Kcal totais e do % de carboidratos, proteínas e lipídios, dos atletas estudados no momento B

Atletas	Calorias	% Carboidrato	% Proteína	% Lipídio
ADE	4907,6	73,1	13,4	13,5
BAQO	4513,9	56,1	12,5	31,5
BLC	6814,6	56,7	14,7	28,6
EMC	3828,9	47,0	10,0	43,0
ECJ	3073,9	44,4	18,5	37,1
EJSJ	1116,5	47,5	27,7	24,8
FSSL	4075,9	49,3	17,3	33,4
LBO	2708,4	48,6	20,8	30,6
MRO	4706,6	54,7	10,7	34,6
PL	4931,6	39,7	21,7	38,6
RBS	3572,9	55,0	16,5	28,5
TLP	2453,3	68,3	10,0	21,7
TZC	4844,3	62,2	14,6	23,3
WSB	3294,1	45,3	18,4	36,3
Média ± EPM	3917,3± 370,2	53,4 ± 2,5	16,2 ± 1,3	30,4 ± 2,1

Tabela XXII - Inquérito habitual. Levantamento do consumo alimentar habitual de fibras, ácidos graxos e colesterol dos atletas no momento B

Atletas	Fibras (g)	A.G.Satur (g)	A.G.Mono (g)	A.G.Poli (g)	Colest. (mg)
ADE	24,1	5,6	3,6	3,6	69,9
BAQO	48,6	40,9	6,0	14,9	175,0
BLC	48,2	51,6	6,3	7,6	407,3
EMC	24,9	32,0	14,1	19,7	150,0
ECJ	10,1	9,5	2,9	7,3	85,0
EJSJ	13,3	7,0	8,1	10,2	131,3
FSSL	48,5	22,2	12,3	14,2	150,0
LBO	25,1	10,3	6,7	16,8	23,2
MRO	23,4	23,8	24,8	23,0	101,0
PL	33,4	48,2	10,7	24,3	236,4
RBS	45,8	12,8	5,5	13,7	52,5
TLP	0,8	12,6	1,2	2,9	67,6
TZC	45,1	26,1	9,9	24,5	112,5
WSB	20,9	28,4	7,2	17,8	131,3
Média ± EPM	29,4 ± 4,2	23,6 ± 4,1	8,5 ± 1,6	14,3 ± 1,9	135,2 ± 25,5

Tabela XXIII - Inquérito habitual. Levantamento do consumo alimentar habitual de cálcio, ferro e sódio dos atletas no momento B

Atletas	Cálcio (mg)	Ferro (mg)	Sódio (mg)
ADE	956,1	24,7	2680,5
BAQO	1790,8	9,9	2579,8
BLC	4090,2	32,9	7511,0
EMC	256,6	8,0	4013,1
ECJ	1124,8	14,8	1651,7
EJSJ	647,6	5,4	2316,8
FSSL	910,8	21,3	3542,4
LBO	568,4	17,9	3768,1
MRO	523,6	17,2	4016,4
PL	2146,0	24,2	4533,8
RBS	704,9	18,4	1395,9
TLP	783,4	4,5	1503,3
TZC	715,2	17,4	3483,3
WSB	1346,5	16,0	4162,5
Média ± EPM	1183,2 ± 261,7	16,6 ± 2,1	3368,5 ± 423,9

Tabela XXIV - Comparação do consumo alimentar habitual (inquérito habitual) com os valores de referência IDR e ACSM, no momento B

	Atletas	IDR		ACSM
		14-18	19-30	
Kcal	3917,3 ± 370,2			
% Carboidratos g/Kg/dia	53,4 ± 2,5 7,7	45-65	45-65	6 - 10
% Proteínas g/Kg/dia	16,2 ± 1,3 2,3	10-30*	10-35	 1,2-1,4
% Lipídios	30,4 ± 2,1	25-35	25-35	20-25
Fibras (g)	29,4 ± 4,2	38	38	
Á.G.Satur. (g)	23,6 ± 4,1			
A.G.Mono (g)	8,5 ± 1,6			
A.G.Poli (g)	14,3 ± 1,9			
Colesterol (mg)	135,2 ± 25,5	< 300	< 300	
Cálcio (mg)	1183,2 ± 261,7	1300	1300	
Ferro (mg)	16,6 ± 2,1	11	8	
Sódio (mg)	3512,8 ± 423,9	1,5	1,5	

*(4-18 anos)