

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO**  
Faculdade de Ciências Farmacêuticas  
Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos  
Área de Nutrição Experimental

Efeito da suplementação crônica com aminoácido de  
cadeia ramificada sobre parâmetros indicativos de  
fadiga em ratos submetidos a protocolo de  
treinamento periodizado

Jonas Alves de Araujo Junior

Dissertação para obtenção do grau de  
MESTRE

Orientador  
Prof. Dr. Júlio Orlando Tirapegui Toledo

São Paulo  
2003

18079

**DEDALUS - Acervo - CQ**



**30100010418**

**Ficha Catalográfica**  
Elaborada pela Divisão de Biblioteca e  
Documentação do Conjunto das Químicas da USP.

Araujo Junior, Jonas Alves de  
A663e Efeito da suplementação crônica com aminoácido de cadeia ramificada sobre parâmetros indicativos de fadiga em ratos submetidos a protocolo de treinamento periodizado / Jonas Alves de Araujo Junior. -- São Paulo, 2003.  
98p.

Dissertação (mestrado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo. Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental.

Orientador: Tirapegui Toledo, Júlio Orlando

1. Nutrição experimental : Ciências dos alimentos 2. Esporte : Nutrição I. T. II. Tirapegui Toledo, Júlio Orlando, orientador.

641.1 CDD

Jonas Alves de Araujo Junior

Efeito da suplementação crônica com aminoácido  
de cadeia ramificada sobre parâmetros indicativos  
de fadiga em ratos submetidos a protocolo de  
treinamento periodizado

Comissão Julgadora  
da  
Dissertação para obtenção do grau de Mestre

Prof. Dr. Júlio Orlando Tirapegui Toledo  
orientador/presidente

Prof. Dr. Antonio Herbert Lancha Junior  
1º examinador

Profa. Dra. Célia Colli  
2º examinador

São Paulo, 16 de dezembro de 2003.

||

***Aos meus amados pais Jonas  
Alves de Araujo e Juracy Natale  
Alves de Araujo, meu eterno  
amor, pois se hoje enxergo mais  
longe é porque me apoiei no  
ombro de gigantes.***

***Aos meus queridos irmãos Carlos e  
Marisa, pelo incentivo e carinho.***

***Aos meus sobrinhos Maurício e João  
Vitor, meus dois maiores incentivos.***

---

## AGRADECIMENTOS

A *Deus*, por ter colocado em meu caminho pessoas tão especiais como essas abaixo citadas.

Ao *Prof. Dr. Julio Tirapegui*, por acreditar na minha honestidade e vontade de vencer sem ao menos me conhecer e, principalmente, pela orientação e colaboração nos momentos mais críticos.

À minha grande parceira nesse trabalho *Gina Falavigna*, pela dedicação companheirismo e, acima de tudo, paciência (coisas de irmã).

Ao meu querido amigo *Marcelo Macedo Rogero*, grande pessoa, que me mostrou muitas vezes o caminho para alcançar meus objetivos, além de sua dedicação e preciosa colaboração nesse trabalho.

À *Ivanir de Oliveira Pires*, pela grande amizade, incondicional dedicação e enorme paciência em todas as determinações experimentais realizadas nesse trabalho.

Ao *Rogério Graça Pedrosa*, grande companheiro, que nos momentos difíceis desse trabalho sempre manteve seu bom humor contagiando a todos ao seu redor.

Ao *José Donato Jr*, uma grata surpresa como pesquisador e principalmente como pessoa.

À minha grande amiga e companheira *Raquel Simões*, por quem eu tenho um grande carinho e admiração.

Ao *Prof. Dr. Leone Simonetti*, pela grande amizade e confiança.

À *Profa. Dra. Célia Colli*, pela colaboração e carinho com a minha pessoa.

Ao *Prof. Dr. Antônio Herbert Lancha Junior*, pela colaboração e, principalmente, pela maneira alegre e pela simplicidade de encarar os problemas.

Ao *Prof. Dr. Luis Fernando B. P. Costa Rosa*, pela colaboração e pela ajuda na determinação de serotonina.

À *Profa. Dra. Inar Alves de Castro*, pela atenção e auxílio no tratamento estatístico e também pela ajuda incondicional nos relatórios da FAPESP.

Ao *Dr. Eivor Martins Júnior*, pelo auxílio e dedicação na determinação de serotonina.

Ao *Prof. Dr. Fernando Salvador Moreno*, pelos ensinamentos e conselhos durante o mestrado.

À *Lurdinha e Joana*, duas pessoas maravilhosas que estão sempre à disposição para ajudar.

À *Helena Chiebao e Luiz Claudio da Silva*, companheiros de departamento que estão sempre prontos para ajudar.

Aos *Professores do Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental*, pela competência e dedicação.

À *Marlene Santos da Rocha*, pelo auxílio na leitura das amostras de insulina e corticosterona.

À *Silvana Neves*, e a todos os funcionários do biotério da FCF-USP, pelo auxílio com os animais.

Ao *Edgar Muniz Machado Jr*, pelo auxílio no uso dos equipamentos para mistura da ração.

Ao *Jorge de Lima* e à *Elaine Midori*, pelas descontração e ajuda nos procedimentos burocráticos.

À *Monica Dealis Perussi* e à *Tânia Cacheiro*, pela orientação e ajuda nos momentos difíceis.

Ao meu querido primo e parceiro *Alberto Bontein da Rosa Neto*, por abrir as portas de seu lar, e me incentivar a continuar estudando.

À minha prima *Patricia Spadaro*, por acreditar no meu potencial e principalmente por me ajudar a vencer as barreiras da língua inglesa com muita paciência e dedicação.

Aos companheiros de laboratório: *Isabela Gerra, Renata Rebello Mendes, Regina Célia Silva, Sandra Lima Ribeiro, Mariana Rezende, Luciana Rossi, Érica Gomes, Leandro Altinori, Nelson Nardo* e *Maysa Vieira*, pela agradável convivência.

À *Ajinomoto Interamericana Indústria e Comércio Ltda.*, pelo fornecimento dos aminoácidos de cadeia ramificada para a suplementação das rações.

À FAPESP, pelo recurso financeiro científico (processo nº 99/03421-8).

À CAPES, pela bolsa outorgada.

As pessoas abaixo citadas não participaram diretamente desse trabalho, mas compartilharam comigo muitos momentos difíceis no decorrer desse período, me apoiando com seus carinhos e compreensão e me aconselhando qual o melhor caminho a seguir.

Ao *Fabio Martins Campole*, meu irmão por afinidade, pela grande amizade e por Ter a certeza (que eu não tinha) que eu conseguiria vencer mais esse desafio.

Ao *Humberto Milanesi Neto*, pelo seu exemplo de amor e dedicação a profissão, o que muitas vezes me estimulou a estudar mais.

Ao *Pedro Luiz Malheiros Sansão*, pela paciência e compreensão na fase mais difícil desse trabalho.

Aos meus irmãos de quadra, *Marco Antonio Evangelista* e *João Cury Neto*, pelo carinho, amizade e principalmente por me mostrar como encarar grandes dificuldades com alegria, pois só assim me tornei mais alegre.

Ao *Alexandre Taborda* e ao *Wagner Meneguim*, pela grande amizade, carinho e momentos de descontração nesse período tão tenso.

Ao *Mário Bianco Fiore*, meu irmão de coração, pela amizade, respeito e exemplo de vida difícil mais muito vitoriosa.

Ao professor *Fredi Vanderlei Pimentel*, meu segundo pai, que me mostrou a importância da convivência em grupo, fato fundamental para o desenvolvimento deste trabalho e de uma vida com mais harmonia.

Aos irmãos *Luiz Cesar* e *Luiz Alexandre Paulilo*, dois grandes amigos que me servem de exemplo, dedicação e sucesso como pesquisador.

## RESUMO

Os processos de fadiga durante o exercício prolongado podem envolver mecanismos relacionados ao músculo (fadiga periférica) e/ou ao sistema nervoso central (fadiga central). O desenvolvimento de estratégias nutricionais, como a suplementação com aminoácidos de cadeia ramificada, pode representar uma alternativa para retardar esses mecanismos e melhorar o rendimento durante o exercício.

**Objetivo:** Avaliar os efeitos de dietas suplementadas com duas concentrações de aminoácidos de cadeia ramificada (ACR), de forma crônica, sobre mecanismos de fadiga em ratos submetidos à natação.

**Métodos:** Foram utilizados 36 ratos Wistar (peso médio inicial: 240 g), que receberam dieta controle (AIN-93M) (C), dieta suplementada com 50% de ACR (50%) e dieta suplementada com 100% de ACR (100%) durante 6 semanas.

O treinamento de natação realizado nesse período foi: 1 hora ao dia, 5 vezes por semana, com sobrecarga próxima ao limiar anaeróbio metabólico atada à cauda (aproximadamente 6% do peso corporal). No último dia do protocolo os animais treinados foram sacrificados após 1 hora de natação (1H) e após o teste de tolerância ao esforço (EX).

**Resultados:** Não foram observadas diferenças estatísticas significativas ( $p= 0,273$ ) no tempo de natação entre os grupos submetidos ao protocolo de exaustão. No entanto, quando comparados os animais submetidos a esse protocolo com os animais que exercitaram-se por 1 hora observou-se diminuição nas concentrações de glicose plasmática, de glicogênio muscular e de glicogênio hepático, acarretando também elevação das concentrações de amônia plasmática (aproximadamente 296% na média), corticosterona sérica e lactato sanguíneo (média 55%). Com relação aos efeitos da suplementação foi verificado preservação do glicogênio muscular e hepático nos grupos que exercitaram se por 1 hora. No entanto as concentrações de amônia após 1h de natação com a suplementação de 100% apresentaram elevação média de 126% e 60% com relação aos grupos 50% e C, respectivamente.

**Conclusão:** A suplementação com ACR não foi eficaz para a melhora do rendimento nessa intensidade de exercício, apesar da preservação do glicogênio hepático.

## ABSTRACT

The fatigue process during prolonged exercise can involve mechanisms related to muscle (peripheral fatigue) and/or central nervous system (central fatigue). The development of dietary manipulation, such as branched chain amino acids (BCAA) supplementation, may represent an alternative to delay such mechanisms and to improve the performance during exercise.

**Objective:** The present work aims to evaluate the effect of diets supplemented with two different concentrations of BCAA on the fatigue mechanisms of rats subjected to swimming in a chronic study.

**Methods:** Male Wistar rats (240g initial weight) were divided in six groups of six animals. In the day of the sacrifice, half of the groups (3 groups of 6 rats) exercised for 1 hour and the other groups exercised until exhaustion. The rats were subjected to 3 different diets: control diet (CD) elaborated in accordance to the American Institute of Nutrition (AIN-93M) recommendations, diet supplemented with 50% BCAA (DS1) and diet supplemented with 100% more BCAA than the AIN-93M recommendations. (DS2). Swimming training was made for 6 weeks: 1 hour a day, 5 days a week, with overload close to the anaerobic threshold attached to the tail (about 6% of the body weight). On the last day of the protocol half of each group was killed after 1h swimming or after the exhaustion test.

**Results:** There was no significant statistical difference ( $p=0.273$ ) among the groups concerning the swimming time to reach exhaustion. However, the groups subjected to the exhaustion test, when compared to the 1h swimming groups, presented lower concentrations of blood glucose ( $p<0.001$ ), muscle glycogen ( $p<0.001$ ), hepatic glycogen ( $p<0.001$ ) and higher concentrations of blood ammonia ( $p<0.001$ ), serum cortisol ( $p<0.001$ ) and blood lactate ( $p<0.001$ ). In relation to the effects of the supplementation, preservation of the muscle ( $p<0.001$ ) and hepatic ( $p<0.001$ ) glycogen was observed on the 1h swimming groups. In these groups, the blood ammonia concentration was higher in the DS2 groups when compared to the DC e DS1 groups ( $p<0.001$ ).

**Conclusion:** The BCAA supplementation showed no positive influence over performance in this exercise intensity despite the hepatic glycogen preservation.

## LISTA DE TABELAS

|  | Página |
|--|--------|
| Tabela 1. Atuação dos neurônios monoaminérgicos no SNC .....   | 09     |
| Tabela 2. Causas para a hipótese da fadiga central durante o exercício ...   | 10     |
| Tabela 3. Composição geral das dietas (g/kg dieta).....  | 29     |
| Tabela 4. Estimativa da composição dos nutrientes das dietas (unidade/kg dieta) .....  | 29     |
| Tabela 5. Estimativa de conteúdo dos ACR das dietas (g/kg de ração).....   | 30     |
| Tabela 6. Porcentagem de proteína e nitrogênio encontrada nas diferentes rações experimentais.....   | 31     |
| Tabela 7. Protocolo de treinamento.....  | 33     |
| Tabela 8. Grupos experimentais (n=6).....  | 34     |
| Tabela 9. Fatores avaliados .....  | 39     |
| Tabela 10. Peso inicial (g) dos grupos experimentais nas condições de 1 hora e exaustão, com dieta controle e suplementada (50 % e 100 % de ACR).....                      | 41     |
| Tabela 11. Peso final (g) dos grupos experimentais nas condições de 1 hora e exaustão, com dieta controle e suplementada (50 % e 100 % de ACR).....                        | 42     |
| Tabela 12. Consumo diário de ração (g/dia) dos grupos experimentais nas condições de 1 hora e exaustão, com dieta controle e suplementada (50 % e 100 % de ACR).....       | 42     |
| Tabela 13. Estimativa de consumo de ACR (mg/dia) dos grupos experimentais nas condições de 1 hora e exaustão, com dieta controle e suplementada (50 % e 100 % de ACR)..... | 43     |
| Tabela 14. Tempo de tolerância ao esforço (minutos) dos grupos submetidos à exaustão com dieta controle e suplementada (50 % e 100 % de ACR).....                          | 44     |
| Tabela 15. Atividade máxima da enzima citrato sintase no músculo sóleo ( $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{g}$ de tecido) nos grupos sedentários e treinados.....            | 45     |

|            |  |    |
|------------|--|----|
| Tabela 16. | Concentração plasmática de glicose (mg/dL) dos grupos experimentais nas condições de 1 hora e exaustão, com dieta controle e suplementada (50 % e 100 % de ACR).....                               | 46 |
| Tabela 17. | Índices glicose/insulina dos grupos experimentais nas condições de 1 hora e exaustão, com dieta controle e suplementada (50 % e 100 % de ACR).....   | 47 |
| Tabela 18. | Concentração plasmática de amônia ( $\mu\text{g/mL}$ ) dos grupos experimentais nas condições de 1 hora e exaustão, com dieta controle e suplementada (50 % e 100 % de ACR).....                   | 48 |
| Tabela 19. | Concentração plasmática de triptofano total ( $\mu\text{g/mL}$ ) dos grupos experimentais nas condições de 1 hora e exaustão, com dieta controle e suplementada (50 % e 100 % de ACR) .....        | 49 |
| Tabela 20. | Concentração plasmática de ácidos graxos livres (mmol/L) dos grupos experimentais nas condições de 1 hora e exaustão, com dieta controle e suplementada (50 % e 100 % de ACR).....                 | 50 |
| Tabela 21. | Concentração sérica de insulina (ng/mL) dos grupos experimentais nas condições de 1 hora e exaustão, com dieta controle e suplementada (50 % e 100 % de ACR).....                                  | 51 |
| Tabela 22. | Concentração sérica de corticosterona (ng/mL) dos grupos experimentais nas condições de 1 hora e exaustão, com dieta controle e suplementada (50 % e 100 % de ACR).....                            | 52 |
| Tabela 23. | Concentração sanguínea de lactato (mmol/L) dos grupos experimentais nas condições de 1 hora e exaustão, com dieta controle e suplementada (50 % e 100 % de ACR).....                               | 53 |
| Tabela 24. | Concentração de glicogênio hepático (mg/100 mg de tecido) dos grupos experimentais nas condições de 1 hora e exaustão, com dieta controle e suplementada (50 % e 100 % de ACR).....                | 54 |
| Tabela 25. | Concentração de glicogênio muscular - gastrocnêmio (mg/100 mg de tecido) dos grupos experimentais nas condições de 1 hora e exaustão, com dieta controle e suplementada (50 % e 100 % de ACR)..... | 56 |

|            |  |    |
|------------|--|----|
| Tabela 26. | Concentração de glicogênio muscular - sóleo (mg/100 mg de tecido) dos grupos experimentais nas condições de 1 hora e exaustão, com dieta controle e suplementada (50 % e 100 % de ACR).....      | 57 |
| Tabela 27. | Concentração de 5-HT do hipotálamo (pg/mg de tecido fresco) dos grupos experimentais nas condições de 1 hora e exaustão, com dieta controle e suplementada (50 % e 100 % de ACR).....            | 58 |
| Tabela 28. | Concentração de proteína hepática (mg/100 mg de tecido) dos grupos experimentais nas condições de 1 hora e exaustão, com dieta controle e suplementada (50 % e 100 % de ACR).....                | 59 |
| Tabela 29. | Concentração de proteína muscular - gastrocnêmio (mg/100 mg de tecido) dos grupos experimentais nas condições de 1 hora e exaustão, com dieta controle e suplementada (50 % e 100 % de ACR)..... | 60 |

---

## LISTA DE FIGURAS

|  | Página |
|--|--------|
| Figura 1. Hipótese de alguns mecanismos envolvidos nas fadigas periférica e central.....   | 07     |
| Figura 2. Alterações dos principais componentes envolvidos na hipótese da fadiga central durante o repouso e exercício prolongado..... | 11     |
| Figura 3. Reação da alanina aminotransferase (ATT) .....   | 14     |
| Figura 4. Estimativa de consumo diário de aminoácidos de cadeia ramificada dos grupos experimentais.....                               | 43     |
| Figura 5. Tempo total de tolerância ao esforço dos grupos treinados submetidos à exaustão.....   | 44     |
| Figura 6. Concentração plasmática de glicose dos grupos experimentais..  | 46     |
| Figura 7. Índices glicose/insulina dos grupos experimentais.....   | 47     |
| Figura 8. Concentração plasmática de amônia dos grupos experimentais.  | 48     |
| Figura 9. Concentração plasmática de TRP total dos grupos experimentais.....   | 49     |
| Figura 10. Concentração plasmática de AGL dos grupos experimentais .....   | 50     |
| Figura 11. Concentração sérica de insulina dos grupos experimentais.....   | 51     |
| Figura 12. Concentração sérica de corticosterona dos grupos experimentais.....   | 52     |
| Figura 13. Concentração sangüínea de lactato dos grupos experimentais...   | 53     |
| Figura 14. Concentração de glicogênio hepático dos grupos experimentais  | 55     |
| Figura 15. Concentração de glicogênio muscular-gastrocnêmio dos grupos experimentais.....  | 56     |

|            |  |    |
|------------|--|----|
| Figura 16. | Concentração de glicogênio muscular-sóleo dos grupos experimentais.....        | 57 |
| Figura 17. | Concentração de 5-HT do hipotálamo dos grupos experimentais.....               | 58 |
| Figura 18. | Concentração de proteína hepática dos grupos experimentais...                  | 59 |
| Figura 19. | Concentração de proteína do músculo gastrocnêmio dos grupos experimentais..... | 60 |

---

## SUMÁRIO

|  | Página |
|--|--------|
| RESUMO   |        |
| ABSTRACT   |        |
| LISTA DE TABELAS                                       |        |
| LISTA DE FIGURAS                                       |        |
| 1. INTRODUÇÃO .....                                    | 01     |
| 2. OBJETIVO .....                                      | 03     |
| 2.1 Objetivo geral .....                               | 03     |
| 2.2 Objetivo específico .....                          | 03     |
| 3. REVISÃO DA LITERATURA .....                         | 04     |
| 3.1 Fatores metabólicos da fadiga .....                | 04     |
| 3.2 Hipótese da fadiga periférica .....                | 05     |
| 3.3 Hipótese da fadiga central .....                   | 08     |
| 3.4 Metabolismo protéico no exercício .....            | 12     |
| 3.5 Metabolismo dos aminoácidos no exercício .....     | 13     |
| 3.6 Suplementação com ACR e rendimento .....           | 16     |
| 4. MATERIAIS E MÉTODOS .....                           | 28     |
| 4.1 Animais .....                                      | 28     |
| 4.2 Dietas experimentais .....                         | 28     |
| 4.3 Protocolo de treinamento .....                     | 31     |
| 4.4 Grupos experimentais .....                         | 34     |
| 4.5 Sacrifício dos animais e coleta das amostras ..... | 35     |
| 4.6 Determinações experimentais .....                  | 35     |
| 4.6.1 Glicose .....                                    | 36     |
| 4.6.2 Ácidos graxos livres .....                       | 36     |
| 4.6.3 Amônia .....                                     | 36     |

|        |  |    |
|--------|--|----|
| 4.6.4  | Triptofano total .....   | 37 |
| 4.6.5  | Insulina .....   | 37 |
| 4.6.6  | Corticosterona .....   | 37 |
| 4.6.7  | Lactato .....  | 37 |
| 4.6.8  | Glicogênio hepático e muscular .....                                       | 38 |
| 4.6.9  | 5-hidroxitriptamina (5-HT) .....   | 38 |
| 4.6.10 | Proteína muscular e hepática .....   | 39 |
| 4.7    | Análise estatística .....  | 39 |
| 5.     | RESULTADOS .....   | 41 |
| 5.1    | Parâmetros biométricos .....   | 41 |
| 5.1.1  | Peso inicial .....   | 41 |
| 5.1.2  | Peso final .....   | 41 |
| 5.1.3  | Consumo diário de ração .....  | 42 |
| 5.1.4  | Estimativa do consumo diário de aminoácidos de cadeia ramificada ACR ..... | 43 |
| 5.2    | Parâmetro de rendimento .....  | 44 |
| 5.2.1  | Tempo de tolerância ao esforço .....                                       | 44 |
| 5.3    | Parâmetros de avaliação do treinamento .....                               | 45 |
| 5.3.1  | Atividade máxima da citrato sintase .....                                  | 45 |
| 5.4    | Parâmetros plasmáticos .....   | 45 |
| 5.4.1  | Glicose .....  | 45 |
| 5.4.2  | Índice glicose/insulina .....  | 46 |
| 5.4.3  | Amônia .....   | 47 |
| 5.4.4  | Triptofano total .....   | 48 |
| 5.4.5  | Ácidos graxos livres .....   | 49 |
| 5.5    | Parâmetros séricos .....   | 51 |
| 5.5.1  | Insulina .....   | 51 |

---

|  |    |
|--|----|
| 5.5.2 Corticosterona .....                     | 52 |
| 5.6 Parâmetro sangüíneo .....                  | 53 |
| 5.6.1 Lactato .....                            | 53 |
| 5.7 Parâmetros teciduais .....                 | 54 |
| 5.7.1 Glicogênio hepático .....                | 54 |
| 5.7.2 Glicogênio muscular - gastrocnêmio ..... | 55 |
| 5.7.3 Glicogênio muscular - sóleo .....        | 56 |
| 5.7.4 5-HT – hipotálamo .....                  | 57 |
| 5.7.5 Proteína hepática .....                  | 58 |
| 5.7.6 Proteína muscular - gastrocnêmio .....   | 59 |
| 6. DISCUSSÃO .....                             | 61 |
| 6.1 Parâmetros biométricos .....               | 61 |
| 6.2 Parâmetro de rendimento .....              | 62 |
| 6.3 Parâmetros bioquímicos .....               | 63 |
| 7. CONCLUSÕES .....                            | 75 |
| 8. REFERÊNCIAS .....                           | 76 |
| 9. ANEXOS .....                                | 95 |

## LISTA DE ABREVIATURAS

- 1 h: grupo treinado e submetido à 1 hora de natação
- 100 %: dieta suplementada com 100 % de ACR
- 50 %: dieta suplementada com 50 % de ACR
- 5-HIAA: ácido 5-hidroxiindolacético
- 5-HT: 5-hidroxitriptamina (serotonina)
- AA: aminoácidos neutros
- ACR: aminoácidos de cadeia ramificada
- ADP: adenosina difosfato
- AGL: ácidos graxos livres
- AIN-93M: *American Institute of Nutrition* – dieta para manutenção de roedores
- AMP: adenosina monofosfato
- ATCR: aminotransferase de cadeia ramificada
- ATP: adenosina trifosfato
- Controle: dieta controle (AIN-93M)
- CPN: ciclo purina nucleotídeo
- DDCR: desidrogenase de cetoácido de cadeia ramificada
- EX: grupo treinado e submetido ao teste de tolerância ao esforço (exaustão)
- IMP: inosina monofosfato
- NaCl: cloreto de sódio
- NH<sub>3</sub>: amônia
- PCr: fosfocreatina
- PKF: fosfofrutoquinase
- SED: grupo sedentário
- SNC: sistema nervoso central
- TRP<sub>L</sub>: triptofano livre
- VO<sub>2 máx</sub>: volume de oxigênio máximo inspirado

---

## 1. INTRODUÇÃO

Estratégias nutricionais que visam o aumento de rendimento esportivo têm sido utilizadas há muitos anos. Existem evidências relatando que nos anos entre 500 e 400 depois de Cristo, atletas e guerreiros participavam de rituais nos quais acreditavam que o consumo de produtos como fígado de veado e coração de leão confeririam-lhes as valências físicas destes animais (Van ITALIE, 1956; MAYER e BULLEN, 1960 e REED, 1977).

Em meados do século XIX, VON LIEBIG (1842) propôs que a proteína seria o combustível mais utilizado durante o exercício físico. Essa proposição foi aceita durante muitos anos por atletas e pesquisadores e, atualmente, muitos atletas acreditam que grandes quantidades de proteína são essenciais para a melhoria do rendimento. Contudo, no final desse século, diversos pesquisadores relataram em seus estudos que carboidratos e lipídeos eram os combustíveis predominantemente oxidados durante o exercício (ARONSON, 1986).

Com o final do século XIX e início do século XX, as pesquisas que utilizam estratégias nutricionais para aumentar o rendimento esportivo se tornaram práticas comuns, principalmente nos grandes eventos esportivos da época, como os Jogos Olímpicos de Atenas (1º da Era Moderna) e a Maratona de Boston. Portanto, nessa época, as pesquisas começaram a elucidar os mecanismos do trabalho muscular, o uso do alimento como combustível e, principalmente, os papéis específicos dos carboidratos, lipídeos e proteínas.

Por volta de 1940, alguns experimentos demonstraram que a suplementação protéica não alterava o rendimento em exercícios de resistência (DARLING *et al.*, 1944). Não obstante, experimentos conduzidos na mesma época demonstraram que a suplementação protéica acarretaria em um aumento da massa muscular em atletas de força.

Com o rápido desenvolvimento da fisiologia do exercício nos anos 1970 e, mais recentemente, com estudos envolvendo treinamento, fisiologia do exercício e nutrição, novas hipóteses surgiram a respeito das estratégias nutricionais para a melhora de rendimento. Experimentos conduzidos por FERNSTROM e WURTMAN nos anos 1971 e 1972 verificaram a interação entre

---

dieta, aminoácidos neutros e síntese de 5-hidroxi triptamina (5-HT) cerebral.

As principais estratégias nutricionais para a melhora do rendimento, desde que a hipótese de VON LIEBIG (1842) foi descartada, tem como substrato principal os carboidratos, pois a fadiga decorrente de exercícios prolongados é atribuída em grande parte a metabólitos que prejudicam os mecanismos contráteis do músculo esquelético, em decorrência da falta de substrato para a geração de energia. No entanto, NEWSHOME (1987) postulou que a fadiga durante os exercícios prolongados poderia ser influenciada pela atividade serotoninérgica cerebral, e que a suplementação com alguns aminoácidos específicos, como os de cadeia ramificada, poderia retardar esses mecanismos de fadiga.

Os efeitos da suplementação com aminoácidos de cadeia ramificada (ACR) em relação ao desempenho em exercícios prolongados ainda são controversos, visto que na literatura ainda são encontrados estudos demonstrando efeitos benéficos ou nenhum efeito ergogênico. Essas discrepâncias podem ser atribuídas à existência de diferenças entre os protocolos experimentais, tais como modelo animal ou humano, quantidade de aminoácido, tempo e via de administração, tipo e duração do exercício.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo geral

Avaliar os efeitos de dietas suplementadas com 50 % e 100 % de ACR sobre alguns parâmetros de fadiga em ratos submetidos ao teste de tolerância ao esforço (protocolo de exaustão).

### 2.2 Objetivo específico

Verificar a influência das suplementações com ACR, administradas cronicamente por meio da dieta, em parâmetros bioquímicos, plasmáticos e teciduais em ratos submetidos ao teste de tolerância ao esforço em natação após treinamento periodizado.

---

### 3. REVISÃO DA LITERATURA

#### 3.1 Fatores metabólicos da fadiga

A musculatura dos mamíferos é capaz de gerar enorme força e capacidade de rendimento quando ativada adequadamente (ARMSTRONG *et al.*, 1991). No entanto, repetidos movimentos mecânicos, mesmo que adequados, são associados com a falência muscular, caracterizada por uma progressiva e precoce diminuição do rendimento. De forma simplificada, essa diminuição no rendimento é conhecida como fadiga, que pode ser inicialmente definida como: o conjunto de manifestações produzidas por trabalho ou exercício prolongado, que têm como consequência a diminuição da capacidade funcional de manter ou continuar o rendimento esperado. Fisiologicamente, o termo fadiga vem sendo definido como “incapacidade de manter a poder de rendimento”, tanto em exercícios de resistência como em condições de treinamento excessivo (PARRY-BILLINGS *et al.*, 1990; DAVIS, 1995a; LEHMAN *et al.*, 1998; JAKEMAN, 1998; ROSSI e TIRAPEGUI, 1999). Portanto, a fadiga indica que a intensidade de treinamento que foi previamente tolerada deve ser reduzida. Outra importante definição é a exaustão, que resulta do estado de fadiga, e que leva à interrupção do exercício antes do período planejado e tolerado (LEHMAN *et al.*, 1993).

A etiologia da fadiga tem despertado grande interesse, devido ao seu caráter multifatorial, e pode ser dividida em dois componentes: fadiga periférica e fadiga central. Esta divisão leva em consideração fatores metabólicos interativos, que afetam os músculos (fadiga periférica) e o cérebro (fadiga central), em atletas e outros indivíduos durante a realização de trabalho físico intenso (LEHMAN *et al.*, 1993). PARRY-BILLINGS *et al.* (1990) e NEWSHOLME *et al.* (1994) descrevem pelo menos cinco causas bioquímicas responsáveis pelo aparecimento da fadiga durante o exercício:

- (1) Depleção de fosfocreatina no músculo;
- (2) Acúmulo de prótons no músculo (acidose);
- (3) Depleção de glicogênio muscular;
- (4) Diminuição da concentração da glicose sangüínea;
- (5) Aumento da proporção triptofano/AACR no sangue.

As causas metabólicas relacionadas à fadiga periférica são as causas 1, 2 e 3 e as relacionadas com a fadiga central são as 4 e 5, descritas acima.

Os mecanismos da fadiga periférica encontram melhor embasamento científico, primariamente, nos fatores que resultam em desordens no processo de contração localizados no próprio músculo, como impedimentos na transmissão neuromuscular no retículo sarcoplasmático, entre outros (ALLEN *et al.*, 1992; APPELL *et al.*, 1992; GANDEVIA, 1992; McLESTER Jr., 1997). Para a fadiga central, muitas vezes referida como “fatores psicológicos” (DAVIS e BAILEY, 1997; PENSGAARD e URSIN, 1998) possíveis de afetar negativamente o desempenho, algumas hipóteses são sugeridas para seu desenvolvimento. Essas se baseiam na incapacidade de alguns trabalhos experimentais em explicar a disfunção muscular, mesmo após oferta de combustível para a utilização das reservas energéticas (COSTILL e HARGREAVES, 1992; COYLE, 1992; HARGREAVES, 1996). Também se baseiam nas situações de fadiga seguidas de infecções, nas recuperações pós-cirúrgicas ou de injúrias (YAMAMOTO *et al.*, 1997), nas diversas desordens mentais e na síndrome da fadiga crônica (SFC), que não possui relação com a fadiga periférica muscular e, provavelmente, reside em um componente do sistema nervoso central (SNC). Reforçando esta última visão, é interessante observar que no caso da SFC, onde há uma fadiga debilitante como principal sintoma, alguns indivíduos mostram pequenas alterações na habilidade para exercer força quando altamente motivados (DAVIS e BAILEY, 1997).

### 3.2 Hipótese da fadiga periférica

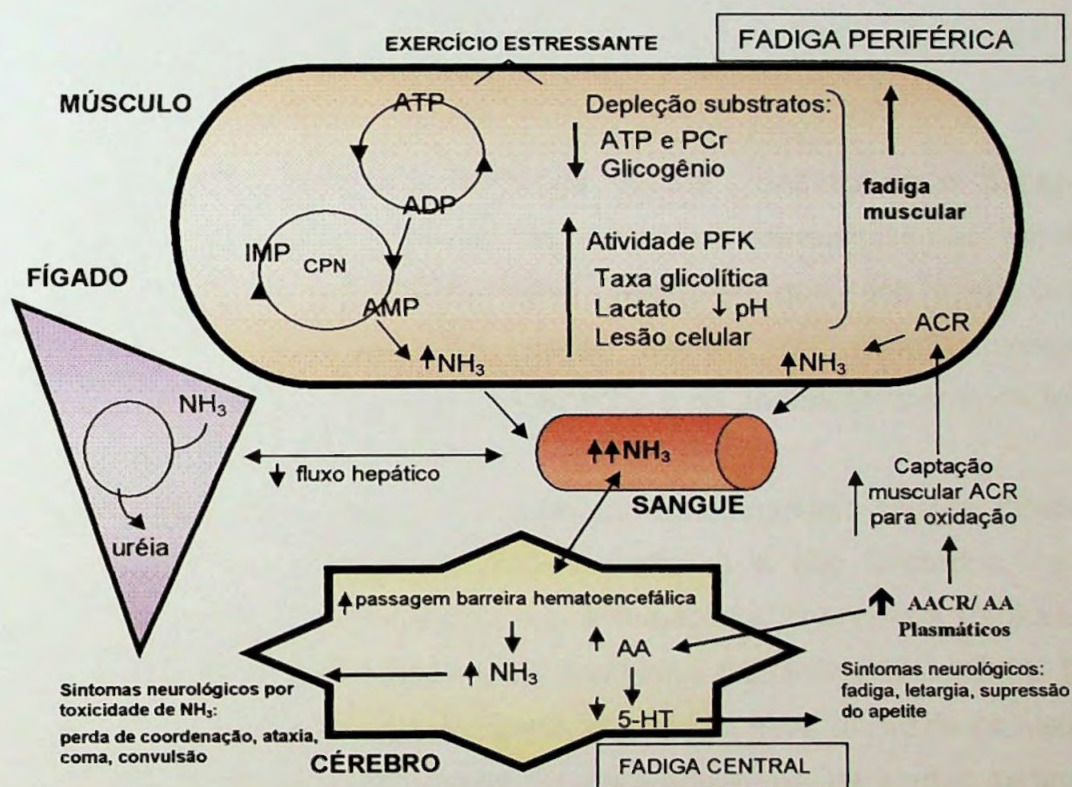
Como anteriormente definido, a distinção entre fadiga central e periférica consiste na diminuição do rendimento esportivo, que reside respectivamente no SNC e na musculatura esquelética. A contração muscular é um processo que pode ser abordado de diversas maneiras, como, por exemplo: modo de estimulação (voluntária - elétrica), tipo de contração (isométrica - isotônica; intermitente - sustentada), frequência, intensidade, duração, tipo de músculo,

características das fibras musculares (SAHLIN, 1992). Considerando essas características, cabe destacar a dificuldade de se delinear os mecanismos relacionados à etiologia da fadiga periférica como, também, a de padronizar as comparações dos protocolos, e das condições experimentais utilizadas nas investigações. Uma hipótese aceita para explicar a fadiga periférica envolve a insuficiência de energia para o trabalho muscular, conhecida também como “hipótese da depleção de glicogênio”.

A energia, proveniente da alimentação, é armazenada nas moléculas de adenosina trifosfato (ATP), esta representa o reservatório de energia potencial, que pode ser usada nos diversos trabalhos biológicos do organismo que necessitem energia, entre os quais: contração muscular; síntese de macromoléculas ou transporte de compostos através da célula (Mc ARDLE, 1992).

No trabalho mecânico de contração muscular, a quebra de ATP em adenosina difosfato (ADP) e sua refosforilação a ATP constitui o chamado ciclo ATP-ADP. A formação de ATP ocorre principalmente por meio de processos aeróbicos (oxidativos), mas também durante exercícios de alta intensidade ou quando há deficiência de O<sub>2</sub> por processos anaeróbicos, com conseqüente formação de lactato e degradação de fosfocreatina (McARDLE, 1992). Na proporção de restauração ADP/ATP para cada 2 ADPs se forma 1 ATP e 1 adenosina monofosfato (AMP); quando não há uma taxa adequada de refosforilação de ADP para ATP, ocorre aumento da concentração de ADP e AMP. O AMP é metabolizado a inosina monofosfato (IMP) e eventualmente convertido em ácido úrico. Durante o exercício intenso, o músculo esquelético ativo se torna a principal fonte de amônia pela deaminação de AMP a IMP, em um processo cíclico denominado Ciclo Nucleotídio Purina, que também é ativo no cérebro. Contudo, a amônia produzida durante o exercício que é influenciada pela composição da fibra muscular, pela intensidade e pela duração do exercício, é liberada para circulação sangüínea. No fígado, grande parte é detoxificada no ciclo da uréia, entretanto, devido à redução do fluxo sangüíneo hepático no exercício (FELIG e WAHREN, 1971; OKAMURA *et al.*, 1987), a formação de amônia pode ser superior a capacidade de detoxificação

desse metabólito. A amônia, também pode atravessar a barreira hematoencefálica, gerando sintomas neurológicos por toxicidade de  $\text{NH}_3$  no cérebro (BANISTER e CAMERON, 1990). Desse modo, a hiperamonemia induzida pelo exercício vem sendo associada tanto à fadiga periférica quanto à fadiga central (BANISTER, RAJENDRA e MUTCH, 1985; GUEZENNEC *et al.*, 1998 MITTLEMAN, RICCI e BAILEY, 1998) (figura 1).



Modificado de BANISTER e CAMERON (1990).

Figura 1. Hipótese de alguns mecanismos envolvidos nas fadigas periférica e na fadiga central.

O exercício prolongado pode, por sua vez, acarretar em baixa concentração intramuscular de glicogênio, que também está associado com o aumento da deaminação de AMP, reação catalisada pela enzima AMP deaminase, que ocasiona aumento da concentração de IMP e amônia. Esse mecanismo tem relação com o aumento da concentração de lactato e também com a diminuição da concentração de fosfocreatina (PCr) muscular, (SAHLIN, 1992; BIANCHI *et al.*, 1997), dois importantes metabólitos que podem ocasionar a fadiga periférica.

### 3.3 Hipótese da fadiga central

Na chamada "hipótese da fadiga central", destaca-se o papel dos aminoácidos que são precursores de certos neurotransmissores cerebrais (CHAOULOFF, 1997; DISHMAN, 1997). Supõe-se que, sob condições de exercício intenso e prolongado, estas aminas ou neurotransmissores influenciariam nos sistemas monoaminérgicos e no desenvolvimento da fadiga. (BAILEY *et al.*, 1992; DAVIS e BAILEY, 1997).

As aminas biogênicas são compostos que possuem grupos funcionais amina, regulando o metabolismo dos mamíferos e são formados, na sua maioria, a partir da descaboxilação dos aminoácidos aromáticos (fenilalanina, tirosina e triptofano), histidina e seus derivados (LEHNINGER, 1989). Deste modo, tem-se a 5-HT, derivada do triptofano; a histamina, derivada da histidina, e as catecolaminas dopamina, norepinefrina e epinefrina, derivadas da tirosina. A dopamina foi o primeiro neurotransmissor a ser estudado em relação à fadiga central. Sua relação com o controle da função motora levou alguns esportistas a ingerirem drogas (anfetaminas) que aumentariam a função dopaminérgica do cérebro, para melhorar seu desempenho (BHAGAT e WHEELER, 1973; CLARKSON e THOMPSON, 1997). A partir da ação destes compostos, os neurônios monoaminérgicos regulam uma ampla extensão de funções do sistema nervoso central (tabela 1).

Tabela 1. Atuação dos neurônios monoaminérgicos no SNC

| Neurônio         | Função                                       |
|------------------|--|
| Noradrenérgicos  | cardiovascular, sono e respostas analgésicas |
| Dopaminérgicos   | Motora                                       |
| Serotoninérgicos | dor, ansiedade, fadiga e sono                |

A função da 5-HT é de grande interesse na investigação do desenvolvimento da fadiga central, atuando no comportamento, na letargia, no humor, no sono, na supressão do apetite e nas alterações na percepção do esforço (TRUSWEELE, 1988; WELLMAN, 1992; BLUNDELL, 1992; WELTZIN *et al.*, 1994; LYONS e CUNLIFFE, OBEID e POWELL-TUCK, 1998). NEWSHOLME, ACWORTH e BLOMSTRAND (1987) foram os primeiros autores a postular a hipótese de que o neurotransmissor 5-HT seria um potente mediador da fadiga central. Outros estudos também consideram que o aumento da concentração de 5-HT no cérebro, durante o exercício prolongado, está diretamente relacionado ao prejuízo na função do SNC, associado ao desenvolvimento da fadiga e conseqüente diminuição do rendimento (CHAOULOFF *et al.*, 1985; CHAOULOFF, LAUDE e ELGHOZY, 1989; CHAOULOFF, 1989; BAILEY, DAVIS e AHLBORN, 1992; DAVIS, 1995b; NEWSHOLME e BLOMSTRAND, 1996).

Uma das explicações da hipótese da fadiga central se relaciona à forma livre do triptofano (TRP<sub>L</sub>), o qual atua como precursor da 5-HT no cérebro. Durante o exercício prolongado ocorre a diminuição das concentrações de glicogênio muscular, sendo assim, os ACR são captados pelo músculo esquelético e oxidados para fins energéticos (DOHM *et al.*, 1981; WAGENMAKERS *et al.*, 1991). Desse modo, haveria uma diminuição dos mesmos no plasma (PARRY-BILLINGS *et al.*, 1990). O triptofano (TRP) é o único aminoácido que circula ligado à albumina na corrente sangüínea (90%) (CHAOULOFF, 1989; BAILEY DAVIS e AHLBORN, 1993; FERNSTRON, 1994), embora uma pequena proporção (10%) circule na forma livre (TRP<sub>L</sub>) (SOARES, SALTER, KNOWLES e POGSON, 1989; NAFFAH-MAZZACORATTI e CAVALHEIRO, 1994; JAKEMAN, 1998). Outro fator

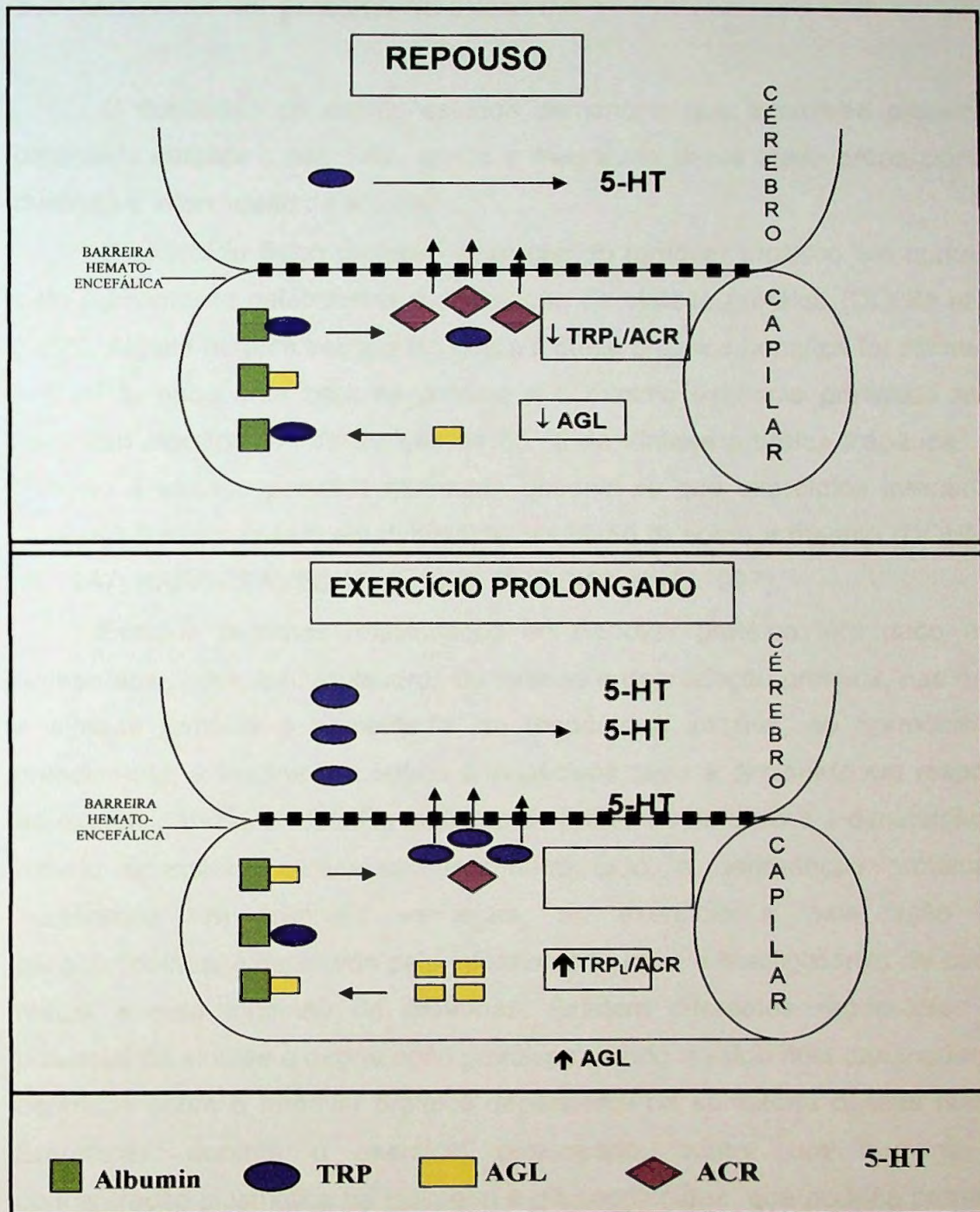
relevante para essa hipótese consiste no aumento das concentrações de AGL plasmáticos, os quais competem com o TRP pelos mesmos sítios de ligação da albumina. Desta maneira, as concentrações aumentadas de AGL circulantes favorecem o aumento da concentração de TRP<sub>L</sub>, pois os AGL em maior quantidade na circulação se ligam em maior número à albumina e, conseqüentemente, a razão TRP<sub>L</sub>/ACR no sangue aumenta, o que favorece o maior influxo de triptofano para o cérebro, acarretando em maior síntese de 5-HT e desenvolvimento precoce da fadiga (cansaço e letargia), mediada por componentes do SNC (LYONS e TRUSWELL, 1988; NEWSHOLME e BLOMSTRAND, 1996; BLOMSTRAND, 2001) (tabela 2 e figura 2).

Tabela 2. Causas para a hipótese da fadiga central durante o exercício

|  |         |
|--|---------|
| Captção dos ACR pelo músculo:                  | Aumenta |
| Concentração plasmática de ACR:                | Diminui |
| Concentração de ácidos graxos livres:          | Aumenta |
| Concentração plasmática de TRP <sub>L</sub> :  | Aumenta |
| Concentração plasmática TRP <sub>L</sub> /ACR: | Aumenta |
| Transporte de TRP <sub>L</sub> para o cérebro: | Aumenta |
| Síntese de 5-HT cerebral:                      | Aumenta |

Adaptado de BLOMSTRAND (2001).

O transporte de TRP<sub>L</sub> e outros aminoácidos neutros, principalmente os ACR, pela barreira hematoencefálica ocorre através do sistema de transporte de aminoácidos B (DAVIS *et al.*, 2000). Este sistema de transporte é regulado por competição, como dito anteriormente, e mediado por concentrações relativas de aminoácidos neutros. Isto reflete, portanto, a porcentagem relativa de aminoácidos que é transportada para o cérebro (FERNSTROM, 1994). Após o TRP passar por esse sistema de transporte e ser hidrolisado pela enzima triptofano hidrolase sofre, logo em seguida, uma descarboxilação sendo, finalmente, metabolizado pelas enzimas aldeído desidrogenase e monoamina oxidase, para seu principal metabólito, o ácido 5-hidroxiindolacético (5-HIAA) (MEEUSEN e DeMEIRLEIR, 1995; DAVIS, 1995a).



Adaptado de DAVIS *et al.* (2000).

Figura 2. Alterações dos principais componentes envolvidos na hipótese da fadiga central durante o repouso e exercício prolongado.

### 3.4 Metabolismo protéico no exercício

O consenso de muitos estudos demonstra que a síntese protéica é diminuída durante o exercício, sendo a magnitude deste efeito proporcional à duração e intensidade da atividade.

O exercício físico promove alteração do *turnover* protéico em humanos pelo aumento do catabolismo e diminuição da síntese protéica (DOHM *et al.*, 1985). Alguns autores verificaram que a síntese protéica hepática foi diminuída em 20 % após uma hora de corrida, e o mesmo exercício praticado até a exaustão resultou em diminuição de 65 % da síntese protéica hepática. Em relação à síntese protéica muscular, observa-se que exercícios intensos e prolongados acarretam em diminuição de 35-55 % sobre a mesma (DOHM *et al.*, 1987; HARGREAVES *et al.*, 1995; BROOKS *et al.*, 1997).

Estudos recentes relacionados ao *turnover* protéico têm dado mais ênfase aos principais reguladores da síntese e degradação protéica, nas quais a síntese protéica é aumentada em resposta à insulina, ao hormônio do crescimento, à leucina e a outros aminoácidos, mas é diminuída em resposta ao exercício físico, à reduzida ingestão de proteínas na dieta e à diminuição do estado energético intracelular. Por outro lado, a degradação protéica é aumentada em resposta ao jejum, ao exercício e pela ação dos glicocorticóides, e diminuída pela infusão de leucina e triacilgliceróis de cadeia média e pela ingestão de proteínas. Existem diferentes reguladores em potencial da síntese e degradação protéicas, sendo o saldo final das mudanças ocorridas sobre o *turnover* protéico dependente da somatória desses fatores. Entretanto, durante o exercício prolongado, ocorre um aumento da concentração plasmática de glucagon e glicocorticóides, que poderia promover diminuição da síntese de proteínas e o aumento da degradação protéica. Desse modo, a sinalização endócrina, considerada o mais potente dos reguladores do *turnover* protéico, reforça a ocorrência de degradação protéica durante o exercício (HARGREAVES, 1995).

Após o exercício moderado, de um modo geral, a síntese é maior do que a degradação protéica (BOOTH *et al.*, 1982), portanto há balanço nitrogenado

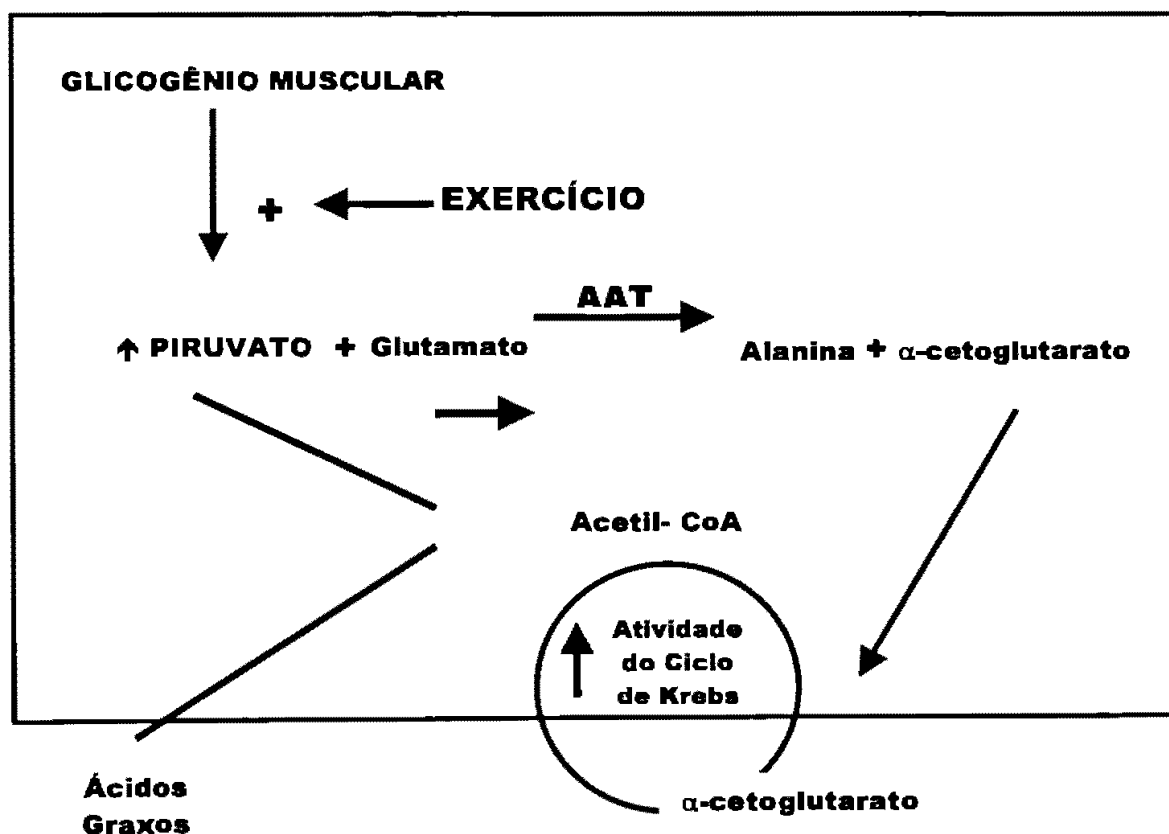
positivo e diminuição da taxa de degradação de proteínas miofibrilares (SEENE *et al.*, 1986), em contraste com a aparente degradação global observada previamente (PASQUALE, 1997).

### 3.5 Metabolismo dos aminoácido no exercício

A degradação da glicose até piruvato (glicólise) fornece a energia para ressíntese de ATP. O ATP gerado deste modo possibilita o transporte do piruvato para a mitocôndria e sua utilização no ciclo de Krebs. Na mitocôndria ocorre a síntese de acetil-CoA, pela enzima piruvato desidrogenase, a qual se condensa com o oxaloacetato e forma o citrato; nesse momento inicia-se o primeiro passo no ciclo de Krebs. O piruvato também pode formar oxaloacetato pela ação da enzima piruvato carboxilase, de acordo com a demanda de acetil-CoA provinda de ácidos graxos livres (LANCHA Jr. *et al.*, 1995). A contínua demanda de citrato pode vir a inibir a enzima fosfofrutoquinase (PFK) da via glicolítica. Como resultado, há uma diminuição da produção de energia desta via.

Prosseguindo a atividade até a exaustão e sem suplementação, há uma depleção de glicogênio muscular que faz com que cada vez mais se utilizem as outras fontes de energia. No caso particular dos aminoácidos, estes podem responder de 5 a 15 % da energia em exercício prolongado (GOODMAN e RUDERMAN, 1982; DOHM *et al.*, 1985; BROOKS, 1987). Em relação ao metabolismo protéico durante a atividade física, há alteração da concentração do *pool* muscular de dois aminoácidos: a alanina e o glutamato. O glutamato apresenta uma diminuição intramuscular inicial em torno de 50-70 %, e esta baixa concentração se mantém ao longo da atividade até a exaustão. A alanina apresenta inicialmente um aumento da sua concentração e liberação pelo músculo (30 primeiros minutos do exercício) (BROOKS, 1987), mas gradualmente retorna aos valores de repouso, para diminuir somente no momento de exaustão. Neste ponto também se observa uma depleção dos estoques de glicogênio muscular.

Essas alterações nas concentrações dos aminoácidos se relacionam diretamente com a maior oxidação aeróbica dos substratos, produzindo um aumento de até 80 vezes na atividade do ciclo de *Krebs*. Assim, no início do exercício (10 primeiros minutos) haveria a necessidade de aumento dos intermediários do ciclo de *Krebs* (anaplerose) (BROOKS, 1987) para produção de energia (ATP). O aumento na concentração de alanina citado anteriormente sugere esse aumento da anaplerose, por meio da reação catalisada pela enzima alanina aminotransferase (figura 3).



Modificado de WAGENMAKERS, 1998.

Figura 3. Reação da alanina aminotransferase (ATT).

De acordo com a duração e intensidade do exercício, há ativação de sistemas energéticos e metabólicos específicos. Em intensidades entre 60 a 90 % do  $VO_{2máx}$ , a fadiga se relaciona principalmente a fatores musculares (fadiga periférica), como depleção dos estoques de glicogênio, onde a resistência ao exercício está diretamente relacionada aos estoques de glicogênio pré-atividade e à taxa de utilização da glicose/glicogênio (WAGENMAKERS *et al.*, 1991). Em intensidades mais altas e de curta duração (>90 %  $VO_{2máx}$ ), a energia é requisitada via processos predominantemente anaeróbicos, caracterizando a fadiga por depleção de fosfatos de alta energia no músculo e acúmulo de metabólitos, como lactato, íons  $H^+$ , fosfatos inorgânicos e ADP, com preservação do glicogênio muscular (McLESTER Jr, 1997).

Como dito anteriormente, com o prosseguimento do exercício e conseqüente depleção nos estoques de glicogênio muscular, a enzima transaminase de aminoácido de cadeia ramificada (TACR) torna-se mais ativa, favorecendo desta maneira a maior atividade do complexo enzimático desidrogenase de  $\alpha$ -cetoácido de cadeia ramificada (DCACR), o qual favorece a oxidação dos ACR, diminuindo a entrada de intermediários para o ciclo de *Krebs* (WAGENMAKERS *et al.*, 1991; SHIMOMURA *et al.*, 2000). Com o aumento da oxidação dos ACR tem-se o caso, principalmente, da leucina, que é oxidada para a formação de 3 moléculas Acetil-CoA com o consumo de  $\alpha$ -cetoglutarato, ocorrendo uma diminuição de intermediários do ciclo de *Krebs* (cataplerose). Entretanto, o mesmo não ocorre com a isoleucina e a valina, este escape de intermediários do ciclo poderia em parte ser compensado pela regeneração do  $\alpha$ -cetoglutarato (anaplerose do ciclo de *Krebs*). Mas essa reação é prejudicada frente a uma depleção de glicogênio já instaurada na musculatura. Assim, têm-se taxas inadequadas de fornecimento de energia e aumento de mediadores celulares da fadiga como, por exemplo, íons  $H^+$ , amônia, entre outros (SAHLIN, 1992).

O mecanismo de fadiga é mais complexo durante exercício moderado-intenso e de longa duração, portanto fatores periféricos (musculares) e centrais (cerebrais) são difíceis de serem distintos. Após exercício de longa duração,

sem suplementação de carboidratos, a glicose sangüínea diminui devido à depleção de glicogênio muscular e, principalmente, hepático (SAHLIN, 1992). A hipoglicemia diminui o fornecimento de substrato energético para o cérebro (glicose), o que prejudica várias funções do SNC, tornando-se um fator agravante de fadiga. A amônia, uma potente neurotoxina que também está relacionada com prejuízo das funções cerebrais, aumenta no plasma, nos tecidos e no cérebro tanto em exercícios de alta intensidade como de longa duração (SAHLIN e BROBERG, 1990). Não obstante, destaca-se a hipótese de que o aumento da razão  $TRP_L / ACR$ , que pode ocorrer no exercício prolongado devido à oxidação dos ACR, altere a oferta de triptofano ao cérebro e a síntese de 5-HT, o que influenciaria o estado de humor durante exercícios exaustivos de longa duração.

### 3.6 Suplementação com ACR e rendimento

Durante a atividade física três possíveis fontes de aminoácidos devem ser consideradas: a proteína oriunda da dieta, o *pool* de aminoácidos livres no plasma e a proteína tecidual. Das três fontes citadas, a mais provável de ser utilizada como fonte energética é a proteína tecidual que fornece aminoácidos para a oxidação e conversão para glicose (DOHM, 1986). A oxidação protéica pode contribuir com até 15 % do total energético durante exercícios prolongados. Desta forma, a suplementação com ACR poderia, além de retardar a fadiga, minimizar a utilização das proteínas teciduais como fontes de energia.

No entanto, os efeitos da suplementação com ACR em relação ao desempenho durante exercícios físicos prolongados é controverso, visto que muitos pesquisadores têm reportado alguns benefícios, enquanto outros não têm observado efeito.

BLOMSTRAND, PERRET e PARRY-BILLINGS (1989) analisaram o efeito do exercício prolongado nas concentrações plasmáticas de aminoácidos e na concentração de 5-HT em diferentes regiões cerebrais de ratos (córtex,

cerebelo, hipocampo, estriato, tronco cerebral e hipotálamo). Os animais foram distribuídos em grupos sedentários e treinados, sendo que estes treinaram em esteira por 11 semanas e foram sacrificados na condição de repouso e após exaustão. A corrida até exaustão causou aumento das concentrações plasmáticas de ACR, ácidos graxos livres e TRP<sub>L</sub>, além de aumento da concentração de triptofano em todas as regiões cerebrais analisadas. O exercício também causou aumento das concentrações de 5-HT e dopamina no mesencéfalo e hipotálamo, sendo que nas outras regiões analisadas não houve diferenças significantes entre a condição de exercício e de repouso para esses parâmetros. Segundo os autores, as concentrações de 5-HT e dopamina aumentaram nas regiões do hipotálamo e do tronco cerebral após exercício, o que pode evidenciar que estas áreas do cérebro exerçam funções relevantes nos efeitos centrais do exercício, incluindo a fadiga física e mental, e aspectos comportamentais.

GALIANO *et al.* (1991) avaliaram os efeitos da adição de ACR em bebida esportiva durante exercício prolongado 70 % do VO<sub>2 max</sub>, em oito ciclistas do sexo masculino. Os testes foram realizados em duas ocasiões, com intervalo de 1 semana, sendo que em cada teste os indivíduos ingeriram 5 ml/kg, a cada 30 min, da bebida com carboidrato a 6 % (C6) ou suplementada com ACR (C6+ACR), sendo 395 mg/L de leucina, 140 mg/L de isoleucina, e 200 mg/L de valina. As amostras sanguíneas foram coletadas no repouso e durante o exercício, a cada 30 minutos. Os tempos de exercício até exaustão não foram diferentes entre os tratamentos (C6: 220±11 min; C6+ACR: 235±10 min). As concentrações plasmáticas de ACR foram mantidas durante o exercício no grupo C6 + ACR, e reduziram levemente ao final do exercício no grupo C6. Em ambos os tratamentos, a concentração de triptofano plasmático não apresentou alterações, aumentando somente na exaustão, e uma resposta similar foi encontrada para cortisol, epinefrina e norepinefrina. Foi concluído que a adição de ACR em bebidas esportivas é capaz de manter as concentrações plasmáticas de ACR, entretanto não promove efeito nas respostas fisiológicas e endócrinas, ou no rendimento durante ciclismo prolongado.

BLOMSTRAND *et al.* (1991) constataram que a ingestão de ACR durante uma maratona proporcionou um efeito benéfico tanto no rendimento mental, quanto físico, melhorando o desempenho físico dos corredores mais “lentos” (indivíduos que completaram a maratona entre 3 h e 5 min e 3 h e 30 minutos), embora não tenha causado efeitos significantes nos corredores mais “rápidos” (indivíduos que completaram a maratona em menos de 3 h e 5 min).

BLOMSTRAND, HASSMÉN e NEWSHOLME (1991) avaliaram 6 indivíduos do sexo feminino durante dois jogos de futebol (com intervalo de 1 semana entre cada) que receberam solução com 6 % de carboidrato contendo 7,5 g/L de ACR (40 % valina, 35 % leucina e 25 % isoleucina), ou solução placebo (água). O exercício ocasionou aumento da concentração plasmática de ACR no grupo suplementado, enquanto houve uma redução no grupo placebo. Não houve alteração, antes e após exercício, da concentração plasmática de TRP<sub>L</sub> no grupo suplementado. Entretanto, houve aumento no grupo placebo. Foi aplicado um teste para avaliar a *performance* mental dos indivíduos, 2 horas antes do jogo, e dentro de 45 minutos após o término do jogo. Observou-se que os indivíduos suplementados apresentaram melhor *performance* nesse teste após o exercício, em relação a antes do exercício, sugerindo que a ingestão de ACR durante o exercício pode manter ou melhorar o estado mental dos atletas.

BLOMSTRAND e NEWSHOLME (1992) pesquisaram o efeito da suplementação com ACR nas concentrações de aminoácidos no plasma e no músculo. Para tanto, 58 indivíduos receberam bebidas contendo uma mistura de ACR ou placebo (solução com 6 % de carboidratos) durante dois tipos de exercício prolongado e intenso: corrida de longa distância de 30 km (7,5 g ACR: 50 % valina, 25 % leucina e 15 % isoleucina, em solução com 6% de carboidratos, administrada em 5 vezes) e maratona de 42,2 km (12 g ACR: 40 % valina, 35 % leucina e 25 % isoleucina, em solução com 6 % de carboidratos, administrada em 14 vezes). As proporções de ACR foram alteradas do primeiro para o segundo exercício para garantir uma ingestão balanceada. Os grupos suplementados apresentaram aumento da concentração plasmática e muscular (*vastus lateralis*) de ACR, enquanto nos grupos placebo a concentração de

ACR diminuiu no plasma e não se alterou no músculo. Nos dois tipos de exercício, o grupo placebo apresentou aumento de 20-40 % da concentração muscular de aminoácidos aromáticos (tirosina e fenilalanina), sendo que a concentração plasmática desses aminoácidos foi maior na maratona. Como a tirosina e fenilalanina não são captadas e metabolizadas pelo músculo, os autores sugerem que o aumento na sua concentração muscular pode indicar degradação protéica durante o exercício. Entretanto, com a suplementação, o aumento das concentrações desses aminoácidos foi prevenido, tanto no plasma como no músculo. Portanto, foi concluído que a ingestão de ACR durante o exercício pode prevenir ou reduzir a taxa de degradação protéica causada pelo exercício mais intenso.

PERTRUZZELO *et al.* (1992) verificaram o efeito da suplementação com ACR sobre indícios de fadiga central. Nove indivíduos do sexo masculino treinaram em exercício prolongado (65 % do  $VO_{2\text{ max}}$ ) após duas semanas de suplementação com placebo ou ACR. As alterações comportamentais foram avaliadas antes e após o exercício, bem como o estímulo ao SNC e a *performance* cognitiva obtidos antes e durante o exercício, por meio de testes específicos. As análises multivariadas não demonstraram efeito da suplementação com ACR em nenhum parâmetro comportamental ou do SNC. O tempo total de exercício foi similar entre os grupos, sugerindo que a suplementação com ACR não é ergogênica. A fadiga psicológica para ambos os grupos (placebo e ACR) aumentou antes e após exercício, e a *performance* cognitiva, assim como o estímulo ao SNC melhoraram durante o exercício.

VERGER *et al.* (1994) utilizaram 34 ratos Wistar adultos, que treinaram em esteira com 5 % de inclinação, com intensidade moderada (0,9 km/h) até a exaustão. A adaptação à esteira foi realizada dois dias antes do experimento, durante 15 minutos/dia. No dia do experimento, os animais receberam por gavagem, imediatamente antes do exercício, e a cada 30 min, até o momento de exaustão, 1 mL de três soluções diferentes: 1) água (controle); 2) glicose (5 %); ou 3) ACR (valina: 1,6 g/100mL; leucina: 1,4 g/100mL; isoleucina: 0,9 g/100 mL). A densidade calórica das soluções com glicose e ACR foi de 15,6 kcal/100 mL. Após a exaustão, foram coletadas amostras de sangue pelo

seio retro-orbital. Os tempos até exaustão foram: grupo controle:  $191 \pm 9$  min; grupo glicose:  $208 \pm 11$  min; grupo ACR:  $179 \pm 10$  min, com diferença significativa entre o grupo glicose e ACR. As concentrações plasmáticas de ACR foram maiores após tratamento com ACR, comparado com água e glicose. Não houve diferenças entre os tratamentos para glicemia. A insulinemia aumentou significativamente no grupo ACR comparado ao grupo glicose, sendo que este não diferiu em relação ao controle. Foi concluído que a ingestão de ACR aumentou a secreção de insulina, inibiu a glicogenólise e diminuiu o rendimento dos animais quando comparados ao grupo que recebeu glicose.

HEFLER *et al.* (1995) avaliaram os efeitos da suplementação de 16 g/dia de ACR (50 % leucina, 30 % valina, 20 % isoleucina) ou placebo em ciclistas competitivos (70 % do  $Vo_2$  max), durante 2 semanas, sendo que durante cada tratamento os indivíduos completaram 40 km em duas ocasiões (no segundo e décimo quarto dia). No grupo placebo, não foram observadas diferenças no tempo de exercício dos 40 km entre o primeiro e segundo teste, já no grupo que recebeu ACR, o tempo do segundo teste foi completado mais rapidamente que o primeiro. No primeiro teste, não foi observada diferença significativa no tempo entre o grupo suplementado e o placebo, ao contrário do segundo, onde o grupo suplementado apresentou menor tempo em relação ao placebo. Foi concluído pelos autores que a suplementação com ACR pode melhorar o desempenho em ciclistas competitivos.

VAN HALL *et al.* (1995) estudaram o efeito da ingestão de ACR e triptofano durante exercício prolongado, considerando a hipótese da fadiga central. Dez atletas do sexo masculino pedalarão até a exaustão em um ciclo ergômetro (70-75 % do  $Vo_2$  max). O desenho experimental foi randomizado duplo-cego, sendo que os atletas receberam bebidas a cada 15 minutos, em quantidades de 2 mL/kg de peso, contendo: 1) 6% de sacarose (controle); 2) 6% de sacarose suplementada com 3 g/L de triptofano; 3) baixa dose de ACR (6 g/L, sendo 2 g/L de cada ACR); 4) alta dose de ACR (18 g/L, sendo 6 g/L de cada ACR). A ingestão de água durante o teste foi *ad libitum* (0-200 mL). Verificou-se que a concentração de amônia plasmática apresentou aumento

após a exaustão em todos os tratamentos, entretanto os valores foram maiores com os suplementos de ACR, em relação ao controle. A ingestão das bebidas com ACR causou aumento da concentração plasmática dos ACR, sendo que a bebida com alta dose de ACR provocou aumento de 3 vezes em relação à bebida de baixa dose de ACR. A concentração plasmática de triptofano diminuiu com o exercício quando foram ingeridas as bebidas com ACR. O tempo de exercício até exaustão não foi diferente entre os tratamentos ( $122 \pm 3$  min). Foram utilizados parâmetros cinéticos de transporte (de capilares cerebrais humanos, medidos *in vitro*), sendo estimado que os suplementos com ACR reduziram a captação de triptofano cerebral na exaustão (8-12 %), enquanto a ingestão de triptofano causou aumento de 7-20 vezes. Os autores concluíram que não houve efeito da ingestão de triptofano ou ACR em solução contendo carboidratos no tempo até exaustão em um estudo controlado, sendo que a atividade serotoninérgica cerebral durante exercício prolongado contribuiu pouco para os mecanismos de fadiga e exaustão (baseado na estimativa da taxa de influxo cerebral do triptofano).

No estudo de BLOMSTRAND *et al.* (1995), cinco ciclistas do sexo masculino realizaram exercício exaustivo em ciclo ergômetro ( $75 \% \text{VO}_2 \text{max}$ ) visando reduzir os estoques de glicogênio muscular. Durante o exercício, a cada 15 minutos, os indivíduos receberam 150 mL de solução contendo 6% de carboidrato (CHO) com adição de 7g/L de ACR (40% valina, 35% leucina e 25% isoleucina), solução contendo 6 % carboidrato ou água flavorizada contendo sacarina. O desempenho físico foi maior em 4 dos 5 ciclistas que consumiram apenas CHO e CHO + ACR durante o exercício, quando comparados aos que receberam água flavorizada. Não foram encontradas diferenças no desempenho dos indivíduos que receberam CHO + ACR ou apenas CHO. Quando a solução com ACR foi administrada, as concentrações plasmáticas e musculares de ACR aumentaram após o exercício em 120 % e 35 %, respectivamente. Nas outras condições não houve alteração nas concentrações de ACR no plasma ou então foram levemente reduzidas, entretanto, estas foram diminuídas no músculo. A concentração plasmática de glutamina foi maior com CHO + ACR do que apenas CHO ou água, entretanto,

sua concentração no músculo não foi alterada, e o glutamato diminuiu nas três condições, após exercício. As soluções com CHO + ACR ou apenas CHO não afetaram o aumento induzido pelo exercício das concentrações plasmáticas e musculares de aminoácidos aromáticos, indicando que a suplementação com ACR ou a suplementação com CHO não influenciou a degradação protéica durante o exercício.

BLOMSTRAND, SONJA e NEWSHOLME (1996) avaliaram 7 ciclistas que realizaram, em duas ocasiões sucessivas, uma prova de exercício exaustivo visando diminuir a reserva muscular de glicogênio. Durante cada prova foi administrada uma bebida com ACR ou água flavorizada (placebo). A ingestão de ACR provocou aumento de 135 % e 57 % nas concentrações plasmáticas e musculares, respectivamente, destes aminoácidos. No grupo placebo, essas concentrações não se modificaram ou, quando muito, reduziram-se ligeiramente no plasma e no músculo. A concentração de glicogênio muscular diminuiu significativamente com a administração do placebo, ao contrário da administração de ACR, indicando que a suplementação com ACR pode ter diminuído a degradação do glicogênio muscular durante o exercício.

CALDERS *et al.* (1997) investigaram os efeitos da administração aguda de ACR, pré-exercício, por injeção intraperitoneal (10 mg de cada ACR dissolvidos em 1mL de NaCl 0,9%) em ratos Wistar (peso inicial de 150-180g), treinados em esteira e com alimentação *ad libitum*. Os grupos experimentais (placebo 1mL de NaCl 0,9% ou ACR) foram divididos em: 1) sedentários (SED); 2) 30 minutos de exercício submáximo (30M); 3) exercício até exaustão (EX). Os animais ficaram em jejum por 24 horas, antes do sacrifício, para garantir as mesmas condições metabólicas entre os tratamentos. Os animais do grupo 30M treinaram em esteira durante 3 semanas, 5 dias/semana, a 1,2 km/h e com 0% de inclinação, por 15 minutos. Após esse período, foram treinados por mais uma semana com as mesmas condições nos primeiros quatro dias, porém em 30 minutos, e o teste foi realizado no quinto dia, quando receberam ACR, por injeção intraperitoneal, 5 minutos antes da corrida (de 30 minutos, a 1,2 km/h e 2,5 % de inclinação), sendo sacrificados após 35 minutos da

injeção. Dos 36 ratos, 18 receberam placebo ou ACR, sendo que 9 de cada grupo foram exercitados ou não. Os animais do grupo EX foram treinados durante 5 semanas, 5 dias/semana, a 1,2 km/h e 0 % de inclinação. Na primeira semana os ratos correram por 15 minutos, com aumento progressivo de 10 minutos a cada semana, até atingir 55 minutos na última semana. Após esse período, os animais foram treinados por mais 4 semanas, sendo que nos primeiros 4 dias de cada, exercitaram-se por 30 minutos, a 1,2 km/h e 0 % de inclinação. No quinto dia de cada semana, os animais receberam a injeção placebo ou ACR, sendo que 12 ratos correram até exaustão a 1,2 km/h e 8 % de inclinação (totalizando 4 corridas até exaustão em ocasiões separadas), enquanto os outros 12 foram sacrificados em repouso. Os principais resultados dos grupos que receberam ACR comparados aos grupos placebos foram: maiores concentrações plasmáticas de ACR; menor razão plasmática de TRP<sub>L</sub>/ACR; maior concentração sanguínea de amônia durante exercício e maior tempo de corrida até exaustão (ACR: 99 ± 9 min, e placebo: 76 ± 4 min). Os autores indicaram que a hiperamonemia provocada pelo exercício não foi a causa imediata da fadiga, visto que os animais tratados com ACR correram 23 minutos a mais, mesmo apresentando maior concentração de amônia. Além disso, sugeriram que o melhor desempenho dos grupos suplementados com ACR pode ser devido a um efeito central por redução da captação de TRP<sub>L</sub> pelo cérebro, dessa forma reduzindo a formação de 5-HT.

MITLEMAN, RICCI e BAILEY (1998) avaliaram indivíduos do sexo masculino (n=7) e feminino (n=6) que receberam 5 mL/kg de ACR (5,88 g/L, sendo 54% leucina, 27% valina e 19% isoleucina) ou placebo (5,88 g/L de polidextrose) a cada 60 minutos, durante repouso, e a cada 30 minutos, durante exercício em ciclo ergômetro a 40 % do VO<sub>2 max</sub>, realizado em uma câmara com temperatura controlada para simular condição de calor. O tempo de exercício até exaustão foi maior com a ingestão de ACR (153,1 ± 13,3 min) do que placebo (137,0 ± 12,2 min) em ambos os sexos. As concentrações plasmáticas de ácidos graxos livres e amônia não foram influenciadas pela suplementação, mas aumentaram com o exercício. Porém, houve uma tendência no aumento da amônia com a ingestão de ACR. As concentrações

de ACR plasmáticos apresentaram aumento com a suplementação em relação ao placebo ( $1209 \pm 119$  vs  $496 \pm 44$   $\mu\text{M}$ ), enquanto o triptofano livre ( $9,6 \pm 0,9$  vs  $12,0 \pm 1,3$   $\mu\text{M}$ ) e a razão  $\text{TRP}_L/\text{ACR}$  ( $0,009 \pm 0,001$  vs  $0,024 \pm 0,003$ ) apresentaram redução, em ambos sexos. Os autores concluíram que a suplementação com ACR é capaz de prolongar o desempenho em exercício moderado sob calor, podendo ser resultante da redução na razão  $\text{TRP}_L/\text{ACR}$ .

DAVIS *et al.* (1999) também testaram os efeitos da ingestão de bebida com carboidratos (com ou sem ACR) e água flavorizada como placebo, durante o exercício prolongado. Oito indivíduos realizaram 3 provas de exercícios de alta intensidade até a fadiga, ingerindo as bebidas 1 hora antes (5 mL/kg, 6% carboidrato) e durante o exercício (2 mL/kg, 6 % carboidrato). A bebida suplementada continha 7 g de ACR, sendo 40 % valina, 35 % leucina e 25 % isoleucina. Os indivíduos que consumiram as bebidas com ou sem ACR correram mais tempo do que os que consumiram o placebo, não havendo diferença entre as bebidas com ou sem ACR. Esses dois tratamentos também causaram aumento da glicemia e insulinemia, e redução da concentração de ácidos graxos livres. Assim, os autores confirmaram um efeito benéfico das bebidas com carboidratos no desempenho durante exercício intenso e prolongado, entretanto, sem efeito da adição dos ACR nessas bebidas.

CALDERS *et al.* (1999) avaliaram os efeitos da administração aguda, pré-exercício, de ACR, glicose ou glicose com ACR. O protocolo de treinamento foi similar ao estudo de CALDERS *et al.* (1997), exceto que os animais não foram submetidos ao jejum e utilizaram somente duas condições: 45 minutos de exercício submáximo (inclinação de 5 % na esteira no dia do sacrifício) e corrida até exaustão. Em cada condição, os animais foram divididos em 4 tratamentos (administração por injeção intraperitoneal): placebo (1 mL NaCl 0,9%), ACR (10 mg de cada ACR dissolvidos em 1 mL de NaCl 0,9 %), glicose (100 mg) e glicose + ACR. Quanto aos resultados dos grupos de 45 minutos, a concentração de amônia sanguínea aumentou significativamente durante exercício no grupo ACR e diminuiu no grupo glicose, em relação ao grupo placebo. As concentrações plasmáticas de ACR foram aumentadas pela administração de ACR e glicose + ACR, no exercício e

repouso, comparadas à administração de placebo. Não houve diferenças significativas entre os grupos quanto ao efeito das suplementações em relação as concentrações plasmáticas de ácidos graxos livres, triptofano livre e glicogênio muscular, sendo observadas diferenças somente entre exercício e repouso, onde houve aumento nos AGL, lactato, TRP<sub>L</sub> e redução no glicogênio. No estudo não foram analisados parâmetros bioquímicos nos grupos que correram até exaustão. Os tempos até exaustão dos grupos submetidos aos 3 tratamentos (ACR, glicose, glicose + ACR) não foram diferentes entre si, porém foram significativamente maiores quando comparados ao placebo. Os autores indicam que os dados de amônia sangüínea, razão TRP<sub>L</sub>/ACR e glicogênio muscular (sóleo) não esclareceram o melhor desempenho dos grupos suplementados, suportando a hipótese de que o efeito da administração de ACR no desempenho pode estar relacionado à disponibilidade de carboidratos durante o exercício.

SHIMOMURA *et al.* (2000) estudaram o efeito da dieta suplementada de forma crônica com ACR no catabolismo dos ACR e no metabolismo de glicogênio em ratos. Foi demonstrado aumento da concentração sérica de ACR e da atividade hepática do complexo enzimático DCACR, a enzima limitante da taxa de catabolismo de ACR, sugerindo que a dieta suplementada cronicamente com ACR possivelmente promove o catabolismo dos ACR. Nos ratos em repouso, não foi verificada diferença significativa entre as dietas no conteúdo de glicogênio hepático e muscular (gastrocnêmio). Entretanto, nos ratos submetidos à exaustão por exercício agudo, essas concentrações foram 2 a 4 vezes maiores nos ratos que receberam a dieta suplementada, em relação à controle. A atividade do complexo enzimático piruvato desidrogenase diminuiu no grupo suplementado em relação ao controle. Os autores concluíram que a dieta suplementada com ACR é capaz de poupar os estoques de glicogênio no fígado e no músculo esquelético durante o exercício, e que a redução da atividade do complexo piruvato desidrogenase nesses tecidos, no grupo suplementado, está envolvida nestes mecanismos.

ROSSI (2001) avaliou os efeitos da suplementação crônica com ACR, por meio da dieta (acrescida de 50 % do conteúdo estimado dos ACR da

formulação AIN-93M) em ratos submetidos à exaustão. O treinamento em natação teve duração de 6 semanas, 1 hora/dia, 5 vezes/semana, com sobrecarga equivalente a 5 % do peso corporal atada à cauda. Foi verificado aumento significativo de 29,7 % no tempo até exaustão do grupo suplementado ( $345 \pm 21$  min) em relação ao grupo controle ( $266 \pm 31$  min). Esse grupo suplementado apresentou, em relação ao controle: aumento de 68 % da concentração de glicogênio muscular (sóleo) e hepático; redução de 30 % da concentração de amônia plasmática e de 33 % da concentração de 5-HT hipotalâmica. Nos grupos submetidos à exaustão em comparação aos sedentários houve: diminuição da concentração de glicogênio hepático e muscular, diminuição da glicemia e da insulinemia; aumento da concentração de lactato sangüíneo, aumento da amônia plasmática, aumento de ácidos graxos livres plasmáticos e aumento da 5-HT do hipotálamo. Concluiu-se que a suplementação com ACR foi eficiente em aumentar o rendimento dos animais, relacionado com a menor concentração de 5-HT no hipotálamo, diferentemente do grupo com dieta controle, que apresentou maiores concentrações de 5-HT. Tal fato pode desencadear os mecanismos de fadiga central e influenciar no seu menor rendimento.

GOMEZ-MERINO *et al.* (2001) avaliaram o efeito da administração de L-valina na atividade da 5-HT no hipocampo de ratos submetidos a exercício intenso e agudo. Foi realizada uma cirurgia nos animais para uma cateterização venosa (para administração do suplemento) e microdiálise cerebral e, após a recuperação cirúrgica, foram submetidos a um período de adaptação à esteira. No dia do protocolo, dois grupos de 7 animais receberam 0,3 mL de solução salina (NaCl 0,9 %) ou L-valina (2 mg/100g em solução salina), injetadas no catéter, e logo em seguida iniciaram o exercício (velocidade de 25 m/min), durante 120 minutos, tempo próximo à exaustão. As amostras de diálise foram coletadas no repouso, durante o exercício e durante a recuperação (de 150 minutos). Outros dois grupos de 10 ratos foram submetidos ao mesmo protocolo de exercício, para verificar o efeito do exercício e da suplementação de valina em parâmetros plasmáticos. No grupo salina, as concentrações extracelulares de 5-HT, ácido 5-Hidroxiacético

(5-HIAA) e TRP no hipocampo aumentaram durante o exercício. Nos grupos suplementados, as concentrações de 5-HT foram mantidas próximas aos valores de repouso durante o exercício e recuperação, e o TRP cerebral diminuiu no final do exercício. Não houve alterações entre os tratamentos com relação à 5-HIAA. As concentrações plasmáticas de valina aumentaram no grupo suplementado em relação ao controle durante o exercício e recuperação. Os autores evidenciaram que o exercício agudo e intenso estimulou o metabolismo de 5-HT no hipocampo de ratos, e que a administração de L-valina pré-exercício preveniu a síntese de 5-HT induzida pelo exercício.

SMRIGA *et al.* (2002) estudaram ratos em duas condições: 1) com livre acesso a atividade em gaiola rotatória, ração, água e solução composta de ACR adicionada de glutamina e arginina. Foi observada uma relação positiva entre o período escuro de atividade livre na gaiola rotatória e a preferência pela solução com ACR. Além disso, a menor síntese de 5-HT no hipotálamo lateral caracterizou os ratos que consumiram a solução com ACR; 2) na outra condição o outro grupo de ratos foi treinado em esteira, e uma solução com ACR foi administrada antes da corrida, aumentando a razão plasmática ACR/TRP ao final e após o exercício. Ocorreu diminuição na síntese da 5-HT do hipotálamo lateral 80 minutos após a corrida. Os autores sugerem um efeito ergogênico, no estudo da primeira condição, pela correlação entre atividade livre e preferência pela solução com ACR. Na segunda condição, foi demonstrado o envolvimento da região do hipotálamo lateral para os efeitos da solução com ACR.

---

## 4. MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 Animais

Foram utilizados ratos albinos Wistar machos, com peso médio inicial de  $245 \pm 3$  gramas, provenientes do biotério da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP. Foram mantidos em gaiolas individuais com temperatura controlada de  $22 \pm 2^\circ$  C, obedecendo a um ciclo invertido 12 h claro/escuro, com a luz acesa às 19:00 h. O acesso dos animais à alimentação e água foi *ad libitum*, com a quantificação do consumo de ração ocorrendo três vezes por semana. Os animais foram pesados três vezes por semana e o peso final foi verificado no dia do sacrifício. Os grupos de animais foram acompanhados por um período total de sete semanas, sendo a primeira semana de adaptação ao ambiente e à alimentação (dieta controle), e seis semanas de treinamento físico.

### 4.2 Dietas experimentais

Foram formuladas três dietas:

- ✓ Dieta controle: elaborada de acordo com as recomendações do American Institute of Nutrition (AIN-93M) para manutenção de roedores adultos (REEVES *et al.*, 1993) (tabela 3);
- ✓ Dieta AIN-93M suplementada com ACR (tabela 4).
  - a) Adição de 50 % do conteúdo recomendado dos ACR (AIN-93M+50 % ACR) (tabela 5);
  - b) Adição de 100 % do conteúdo recomendado dos ACR (AIN 93M+100 % ACR) (tabela 5).

Para que as rações suplementadas ficassem isocalóricas em relação à não suplementada, retirou-se a quantidade de amido correspondente ao acréscimo total dos ACR, já que 1 g de proteína e carboidrato correspondem a 4 kcal (tabela 4).

Tabela 3. Composição geral das dietas (g/kg dieta)

| Ingredientes                                | AIN-93M | AIN-93M<br>+ 50 % ACR | AIN-93M<br>+ 100 % ACR |
|---|---------|-----------------------|------------------------|
| Amido                                       | 620,692 | 608,792               | 596,892                |
| Caseína (> 85 % de proteína)                | 140,000 | 140,000               | 140,000                |
| Sacarose                                    | 100,000 | 100,000               | 100,000                |
| Óleo de soja                                | 40,000  | 40,000                | 40,000                 |
| Fibra (celulose)                            | 50,000  | 50,000                | 50,000                 |
| Mistura de minerais                         | 35,000  | 35,000                | 35,000                 |
| Mistura de vitaminas                        | 10,000  | 10,000                | 10,000                 |
| L-cistina                                   | 1,800   | 1,800                 | 1,800                  |
| Bitartarato de colina<br>(41,1 % de colina) | 2,500   | 2,500                 | 2,500                  |
| Tert-butilhidroquinona                      | 8,000   | 8,000                 | 8,000                  |
| Aminoácidos de cadeia ramificada<br>(ACR)   | 23,8 *  | 35,7 **               | 47,6 **                |

\* quantidade já existente na formulação.

\*\* adição de 50 % e 100 % de ACR.

Tabela 4. Estimativa da composição dos nutrientes das dietas (unidade/kg dieta)

| Nutrientes               | AIN-93M | AIN-93M<br>+ 50 % ACR | AIN-93M<br>+ 100 % ACR |
|--------------------------|---------|-----------------------|------------------------|
| Energia total (kcal)     | 3772,4  | 3772,40               | 3772,40                |
| Total de proteína (g)    | 125,8   | 137,70                | 149,60                 |
| Total de carboidrato (g) | 727,3   | 715,40                | 703,50                 |
| Total de lipídios (g)    | 40,0    | 40,00                 | 40,00                  |
| % de proteína            | 13,3    | 13,30                 | 13,30                  |
| % de carboidrato         | 77,1    | 75,85                 | 74,50                  |
| % de lipídios            | 9,5     | 9,54                  | 9,54                   |
| ACR adicionado           | ---     | 11,90                 | 23,80                  |

Tabela 5. Estimativa do conteúdo dos ACR das dietas (g/kg de ração)

| ACR               | Controle | Suplementação com ACR |                 |
|-------------------|----------|-----------------------|-----------------|
|                   | AIN-93M  | AIN-93M + 50 %        | AIN-93M + 100 % |
| Isoleucina        | 5,9      | 8,85                  | 11,80           |
| Leucina           | 10,9     | 16,35                 | 21,80           |
| Valina            | 7,0      | 10,50                 | 14,00           |
| <b>Adicionado</b> | -        | 11,90                 | 23,80           |
| <b>Total</b>      | 23,8     | 35,70                 | 47,60           |

Foi realizada a análise do conteúdo protéico dos três tipos de ração pelo método de Kjeldahl (CECCHI, 1999), através da determinação do teor de nitrogênio de origem orgânica. Como o teor de nitrogênio dos diferentes tipos de proteína é aproximadamente o mesmo, em torno de 16%, multiplica-se a porcentagem de nitrogênio total encontrado pelo fator 6,25 para obter-se a porcentagem de proteína da amostra. Este método baseia-se na digestão da amostra com ácido sulfúrico, na presença do catalisador sulfato de cobre e do sulfato de potássio. Durante esse processo o nitrogênio da proteína é reduzido em sulfato de amônia. O sulfato de amônia é destilado com NaOH concentrado, ocorrendo a liberação da amônia dentro de um volume conhecido de uma solução de ácido bórico, na presença de solução indicadora, formando borato de amônia, que é titulado com solução de ácido clorídrico 0,1 N.

Para calcular a porcentagem de proteína na amostra de ração foi utilizado o peso equivalente do nitrogênio, a normalidade do ácido clorídrico, o peso da amostra e o fator de 6,25. A fórmula está representada abaixo:

$$\% N = (\text{mL HCl am} - \text{mL HCl br}) \times N \text{ HCl} \times \text{FC} \times 14,007 \times 100 / \text{mg am}$$

mL = volume gasto  
am = amostra  
br = branco  
N = normalidade  
FC = fator de correção

Os resultados dessa análise estão apresentados na tabela 6.

Tabela 6. Porcentagem de proteína e nitrogênio encontrada nas diferentes rações experimentais

| Ração | % Proteína | % Nitrogênio |
|-------|------------|--------------|
| C     | 11,77      | 1,88         |
| S1    | 14,41      | 2,31         |
| S2    | 15,23      | 2,44         |

### 4.3 Protocolo de treinamento

O treinamento dos animais foi realizado em um modelo de natação desenvolvido para esse fim (VIEIRA *et al.*, 1988), sendo o mesmo composto de dez tanques individuais de PVC através dos quais circula água aquecida por um sistema central de resistência elétrica a uma temperatura de  $31 \pm 2^\circ\text{C}$ . O período de treinamento foi de seis semanas, cinco dias por semana, com duração diária e sobrecargas descritas na tabela 7.

Durante a primeira semana de treinamento (semana 1, tabela 7) os animais iniciaram um treinamento progressivo visando sua adaptação ao meio líquido. No primeiro dia da segunda semana de treinamento foi utilizado o protocolo de teste progressivo para determinação do limiar anaeróbio metabólico e sobrecarga inicial de treinamento, sendo que um segundo teste foi realizado no primeiro dia da quinta semana para a correção da sobrecarga de treinamento (MARQUEZI, 1999). O protocolo de teste consistiu de exercício agudo de natação com sobrecarga progressiva, sob a forma de pesos atados a cauda do animal, correspondendo a 4, 5, 6, 7 e 8 % do seu peso corporal, durante períodos de 3 minutos de natação intercalados com 1 minuto de repouso. Visando minimizar qualquer tipo de estresse decorrente da manipulação dos animais e da mudança de ambiente, foi realizado um período de aquecimento com duração de 20 minutos sem sobrecarga.

---

Coletas de sangue a partir da veia caudal foram realizadas após o período de aquecimento, ou seja nos períodos de sobrecarga. O sangue foi coletado por meio de capilares heparinizados e, posteriormente, foi realizada a dosagem de lactato.

O limiar anaeróbio metabólico foi determinado a partir da inflexão da curva de concentração de lactato sangüíneo pela sobrecarga utilizada. O ponto de inflexão da curva correspondia à sobrecarga considerada como a carga do limiar anaeróbio metabólico.

Os animais foram treinados durante quatro semanas com sobrecargas correspondentes ao seu limiar anaeróbio metabólico. No último dia de experimento os animais foram submetidos ao exercício até a exaustão. O tempo de exaustão foi caracterizado como o momento em que o animal não conseguia manter as narinas fora da água durante 10 segundos.

Tabela 7. Protocolo de treinamento

| Semana 1<br>(sem sobrecarga) |        | Semana 2<br>(sobrecarga sublimia) |               | Semana 3<br>(sobrecarga limiar) |        | Semana 4<br>(sobrecarga limiar) |        | Semana 5<br>(sobrecarga limiar) |               | Semana 6<br>(sobrecarga limiar) |              |
|------------------------------|--------|-----------------------------------|---------------|---------------------------------|--------|---------------------------------|--------|---------------------------------|---------------|---------------------------------|--------------|
| Dias                         | Tempo  | Dias                              | Tempo         | Dias                            | Tempo  | Dias                            | Tempo  | Dias                            | Tempo         | Dias                            | Tempo        |
| Segunda                      | 20 min | Segunda                           | Teste lactato | Segunda                         | 40 min | Segunda                         | 60 min | Segunda                         | Teste lactato | Segunda                         | 60 min       |
| Terça                        | 20 min | Terça                             | 30 min        | Terça                           | 50 min | Terça                           | 60 min | Terça                           | 40 min        | Terça                           | 60 min       |
| Quarta                       | 30 min | Quarta                            | 40 min        | Quarta                          | 50 min | Quarta                          | 60 min | Quarta                          | 40 min        | Quarta                          | 60 min       |
| Quinta                       | 30 min | Quinta                            | 40 min        | Quinta                          | 60 min | Quinta                          | 60 min | Quinta                          | 50 min        | Quinta                          | repouso      |
| Sexta                        | 60 min | Sexta                             | 60 min        | Sexta                           | 60 min | Sexta                           | 60 min | Sexta                           | 50 min        | Sexta                           | Teste exatão |

#### 4.4 Grupos experimentais

Os diferentes grupos experimentais são apresentados na tabela 8.

Tabela 8. Grupos experimentais (n=6)

| <b>RAÇÃO</b>                                   | <b>SEDENTÁRIO</b><br>(n=6) | <b>Exercitados</b><br>(n=6) |
|--|----------------------------|-----------------------------|
| <b>AIN-93M</b><br>Sem Suplementação (C)        | SED C*                     | 1h C<br>EX C                |
| <b>AIN-93M+50 %ACR</b><br>Suplementação 50 %   | SED 50*                    | 1h 50 %<br>EX 50 %          |
| <b>AIN-93M+100 %ACR</b><br>Suplementação 100 % | SED 100*                   | 1h 100 %<br>EX 100 %        |

\* valores de referência.

SED\* = sedentário controle (C) ou suplementado (50 % e 100 %).

1 H = intenso com 1 hora de natação controle (C) ou suplementado (50 % e 100 %).

EX = intenso submetido à exaustão controle (C) ou suplementado (50 % e 100 %).

No presente estudo, além das 3 concentrações de suplementação já relatadas, foram utilizados 2 grupos treinados e um grupo sedentário, sendo que os grupos treinados foram submetidos a protocolos de treinamentos idênticos.

No dia do sacrifício, um grupo pertencente a cada tipo de suplementação foi sacrificado após 1 hora de natação, e outro submetido ao teste de tolerância ao esforço (teste de exaustão).

A utilização do grupo que foi sacrificado após 1 hora de natação reflete o treinamento diário dos animais, o que ajudaria a explicar as alterações metabólicas ocorridas entre o treinamento diário e o protocolo de exaustão. Este modelo de grupo vem sendo referido por alguns autores, como LANCHA Jr (1991).

Os animais do grupo sedentário foram mantidos nas condições experimentais durante 7 semanas sem serem submetidos a treinamento, apenas manipulados de modo similar aos animais treinados, sendo sacrificados na condição de repouso. Os resultados desse grupo foram considerados valores de referência, já que o objetivo do presente estudo é avaliar os efeitos das suplementações com ACR em ratos treinados e submetidos à exaustão.

#### 4.5 Sacrifício dos animais e coleta das amostras

Todos os grupos de animais foram sacrificados por decapitação, entre 9:00 e 11:00 h, com exceção dos que foram submetidos à exaustão. O sangue dos animais foi coletado e as frações de plasma e soro centrifugadas, congeladas e estocadas. O hipotálamo cerebral, o fígado e os músculos sóleo e gastrocnêmio foram extraídos, pesados, colocados imediatamente em nitrogênio líquido e estocados em freezer a  $-80^{\circ}\text{C}$  para posterior análise bioquímica.

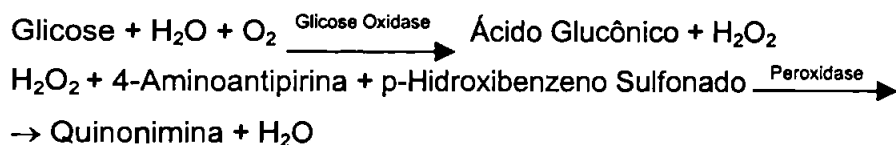
#### 4.6 Determinações experimentais

Parâmetros analisados:

- Biométricos: peso corpóreo, consumo de ração e ACR;
- Rendimento: tempo de resistência ao esforço (exaustão);
- Parâmetros de avaliação do rendimento: atividade de enzima Citrato Sintase;
- Plasmáticos: glicose, ácidos graxos livres, amônia, triptofano total;
- Séricos: insulina e corticosterona;
- Sangüíneo: lactato;
- Teciduais: glicogênio hepático, glicogênio muscular (gastrocnêmio e sóleo) e 5-HT (hipotálamo) proteína hepática e muscular (gastrocnêmio).

### 4.6.1 Glicose

A glicose plasmática foi quantificada pelo "kit" da Labtest Diagnóstica, segundo método de BERGMEYER (1974) que consiste nas seguintes reações:



A concentração de glicose foi inferida pela quantidade de quinonimina formada e medida em espectrofotômetro (SHIMADZU UV VIS 1240) a 505 nm de comprimento de onda.

### 4.6.2 Ácidos graxos livres

O método foi realizado segundo REGOUW *et al.* (1971) e FALHOLT *et al.* (1973), o qual se baseia em três etapas: extração, saponificação e leitura com reagente colorimétrico em espectrofotômetro (SHIMADZU UV VIS 1240) a 550 nm de comprimento de onda.

### 4.6.3 Amônia

A determinação de amônia foi realizada através do "kit" da Sigma Diagnostics, de acordo com o método de RATLIFF e HALL (1979). A diminuição na absorbância a 340 nm no espectrofotômetro (SHIMADZU UV VIS 1240) é proporcional à concentração de amônia plasmática.

#### 4.6.4 Triptofano total

A determinação de triptofano foi realizada por método fluorimétrico descrito por DENCKLA e DEWEY (1967) e modificado por BLOXAM e WARREN (1974). A leitura foi feita em espectrofluorímetro (HITACHI) com excitação de 373 nm e emissão de 452 nm em cubetas de quartzo.

#### 4.6.5 Insulina

A insulina sérica foi dosada pelo método radioimunoensaio, utilizando-se o "kit" Biotrak <sup>TM</sup> (Amersham International). A leitura foi realizada em contador de cintilação gama (Beckman L600).

#### 4.6.6 Corticosterona

A corticosterona sérica foi dosada pelo método radioimunoensaio, utilizando-se o "kit" Biotrak <sup>TM</sup> (Amersham International). A leitura foi realizada em contador de cintilação gama (Beckman L600). Previamente ao ensaio, as amostras de soro foram diluídas e aquecidas a 60 °C por 30 minutos em banho com água e resfriadas em temperatura ambiente. Este procedimento permite que a corticosterona seja deslocada da globulina ligante de corticosterona.

#### 4.6.7 Lactato

Após o sacrifício do animal, foram coletados 25 uL de sangue em capilares para dosagem por técnica eletroquímica (Lactímetro Yellow Springs Instruments, modelo 1500), após estabilização da amostra com fluoreto de sódio a 2 %.

#### 4.6.8 Glicogênio hepático e muscular

A determinação da concentração de glicogênio muscular e hepático foi realizada de acordo com o método descrito por HASSID e ABRAHAMS (1957). O método possui duas etapas: a extração e a quantificação do glicogênio hepático e muscular (gastrocnêmio e sóleo). Os tecidos foram digeridos por aproximadamente 60 minutos em banho fervente com uma solução 30 % de KOH (etapa de extração prévia). Após, foram feitas duas precipitações com etanol 70 % em banho fervente (extração final). A seguir, a quantificação foi feita através de uma solução de antrona com ácido sulfúrico. O ácido hidrolisa o glicogênio à glicose, e a antrona reage com a glicose, produzindo uma coloração esverdeada. A leitura foi feita em espectrofotômetro (SHIMADZU UV VIS 1240) a 540 nm de comprimento de onda.

#### 4.6.9 5-hidroxi triptamina (5-HT)

Foi utilizado o método de HPLC com detecção eletroquímica descrita por RIBEIRO *et al.* (1993).

Após a decapitação, a caixa craniana foi aberta e o hipotálamo foi extraído para análise de 5-HT. Após a extração, o hipotálamo foi pesado e sonicado em uma solução de 0,2N HClO<sub>4</sub> contendo 0,5 nM de ácido ascórbico e 0,1 mg/ml de dihidroxibenzilamina (DHBA), como padrão interno. O homogenato tecidual (padronizado para 100 mg de peso/ml), foi depois centrifugado a 17.000 x g por 15 minutos a 25 °C. O fluído sobrenadante foi então transferido para centrífiltros com 0,2 µm e centrifugados novamente a 1.000 x g por 5 minutos com objetivo de remover pequenas partículas antes da injeção no HPLC (SARKISSIAN *et al.*, 1990). As amostras colhidas foram injetadas em sistema HPLC para determinar o teor de 5-HT e 5-HIAA.

A fase móvel foi composta de fosfato de sódio (75 mM), ácido heptanosulfônico (0,63 mM), EDTA (0,27 mM), trietanolamina (100 µl/L) e metanol (12,5 % v/v - pH 3,0). O fluxo foi de 1,0 ml/min e os potenciais

aplicados aos eletrodos foram de 350 mV, na célula protetora, e 250 mV, na célula analítica, além de 50 mV, na célula analítica, com o objetivo de diminuir o ruído dos outros reagentes.

#### 4.6.10 Proteína muscular e hepática

A determinação da concentração de proteína muscular e hepática foi determinada segundo a metodologia descrita por LOWRY *et al.* (1951) para os homogeneizados de tecidos, sendo os seus valores comparados à curva-padrão de albumina. O princípio consiste na hidrólise alcalina das proteínas celulares, com posterior adição do reagente colorimétrico de Folin-Ciocalteu. A leitura foi realizada a 660 nm.

#### 4.7 Análise estatística

Os dois fatores avaliados neste estudo:  $x_1$  = suplementação com AACR e  $x_2$  = condição do teste de *performance*, tiveram os três níveis de variação (0 %, 50 % e 100 % de suplementação com AACR) e dois níveis de variação (1 hora e exaustão) respectivamente codificados, resultando em seis grupos experimentais, de acordo com a tabela 9.

Tabela 9. Fatores avaliados

| <b>Ensaio</b> | <b><math>X_1</math></b> | <b><math>x_2</math></b> | <b>Grupo</b>  |
|---------------|-------------------------|-------------------------|---------------|
| 1             | - 1                     | -1                      | 1H-CONTROLE   |
| 2             | 0                       | +1                      | EX- 50 % SUP  |
| 3             | +1                      | -1                      | 1H- 100 % SUP |
| 4             | -1                      | +1                      | EX-CONTROLE   |
| 5             | 0                       | -1                      | 1H – 50 % SUP |
| 6             | +1                      | +1                      | EX- 100 % SUP |

---

Os resultados obtidos experimentalmente para todas as variáveis dependentes (respostas) foram analisados entre os seis grupos experimentais através de ANOVA-Fatorial, uma vez que este tipo de planejamento permite a análise da significância estatística do efeito principal de cada fator, separadamente do efeito da interação. A variável "R" foi avaliada apenas em função do fator  $x_1$  = suplementação com AACR. Adotou-se previamente um valor  $\alpha$  de 0,05 e utilizou-se o teste de Tukey HSD para a identificação dos contrastes significativos (BOWER, 1998a).

Variáveis que apresentavam significativo desvio da normalidade, segundo os testes de Kolmogorov-Smirnov e Wilks, foram também analisadas empregando-se o teste de Kruskal-Wallis, e confirmaram os resultados obtidos pelo procedimento paramétrico (BOWER, 1998b). Todos os cálculos e gráficos foram realizados com auxílio do programa STATISTICA v.6 (2002).

## 5. RESULTADOS

### 5.1 Parâmetros biométricos

#### 5.1.1 Peso inicial

De acordo com a tabela 10, não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos em relação ao peso inicial.

Tabela 10. Peso inicial (g) dos grupos experimentais nas condições de 1 hora e exaustão, com dieta controle e suplementada (50 % e 100 % de ACR)

| Controle         |                  | 50 %             |                  | 100 %            |                  | P     |       |       |
|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|-------|-------|-------|
| 1 H              | EX               | 1 H              | EX               | 1 H              | EX               | Dieta | Cond  | Int   |
| 245 <sup>a</sup> | 245 <sup>a</sup> | 245 <sup>a</sup> | 245 <sup>a</sup> | 240 <sup>a</sup> | 244 <sup>a</sup> | 0,771 | 0,713 | 0,380 |
| ± 14             | ± 10             | ± 14             | ± 8              | ± 10             | ± 10             |       |       |       |

Dados expressos como média ± desvio-padrão.

Diferenças significativas entre os grupos/variável ( $p < 0,05$ ).

Valores na mesma linha apresentam a mesma letra quando não diferem significativamente.

#### 5.1.2 Peso final

Conforme a tabela 11, não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos treinados em relação ao peso final.

BIBLIOTECA  
Faculdade de Ciências Farmacêuticas  
Universidade de São Paulo

Tabela 11. Peso final (g) dos grupos experimentais nas condições de 1 hora e exaustão, com dieta controle e suplementada (50 % e 100 % de ACR)

| Controle         |                  | 50 %             |                  | 100 %            |                  | P     |       |       |
|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|-------|-------|-------|
| 1 H              | EX               | 1 H              | EX               | 1 H              | EX               | Dieta | Cond  | Int   |
| 336 <sup>a</sup> | 347 <sup>a</sup> | 344 <sup>a</sup> | 357 <sup>a</sup> | 339 <sup>a</sup> | 335 <sup>a</sup> | 0,312 | 0,129 | 0,380 |
| ± 29             | ± 15             | ± 28             | ± 13             | ± 20             | ± 17             |       |       |       |

Dados expressos como média ± desvio-padrão.

Diferenças significativas entre os grupos/variável ( $p < 0,05$ ).

Valores na mesma linha apresentam a mesma letra quando não diferem significativamente.

### 5.1.3 Consumo diário de ração

De acordo com a tabela 12, verificou-se que o consumo diário de ração não se alterou de forma significativa entre os grupos experimentais.

Tabela 12. Consumo diário de ração (g/dia) dos grupos experimentais nas condições de 1 hora e exaustão, com dieta controle e suplementada (50 % e 100 % de ACR)

| Controle        |                 | 50 %            |                 | 100 %           |                 | P     |       |       |
|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-------|-------|-------|
| 1 H             | EX              | 1 H             | EX              | 1 H             | EX              | Dieta | Cond  | Int   |
| 21 <sup>a</sup> | 21 <sup>a</sup> | 20 <sup>a</sup> | 21 <sup>a</sup> | 21 <sup>a</sup> | 21 <sup>a</sup> | 0,115 | 0,648 | 0,296 |
| ± 0,8           | ± 0,9           | ± 0,7           | ± 0,6           | ± 0,7           | ± 0,6           |       |       |       |

Dados expressos como média ± desvio-padrão.

Diferenças significativas entre os grupos/variável ( $p < 0,05$ ).

Valores na mesma linha apresentam a mesma letra quando não diferem significativamente.

### 5.1.4 Estimativa do consumo diário de aminoácidos de cadeia ramificada (ACR)

As estimativas do consumo diário de ACR dos grupos experimentais são apresentadas na tabela 13 e na figura 4.

Tabela 13. Estimativa de consumo de ACR (mg/dia) dos grupos experimentais nas condições de 1 hora e exaustão, com dieta controle e suplementada (50 % e 100 % de ACR)

| Controle         |                  | 50 %             |                  | 100 %             |                   | P     |       |       |
|------------------|------------------|------------------|------------------|-------------------|-------------------|-------|-------|-------|
| 1 H              | EX               | 1 H              | EX               | 1 H               | EX                | Dieta | Cond  | Int   |
| 501 <sup>a</sup> | 511 <sup>a</sup> | 717 <sup>b</sup> | 741 <sup>b</sup> | 1003 <sup>c</sup> | 1001 <sup>c</sup> | 0,000 | 0,312 | 0,597 |
| ± 20             | ± 45             | ± 24             | ± 22             | ± 34              | ± 30              |       |       |       |

Dados expressos como média ± desvio-padrão.

Diferenças significativas entre os grupos/variável ( $p < 0,05$ ).

Valores na mesma linha apresentam a mesma letra quando não diferem significativamente.

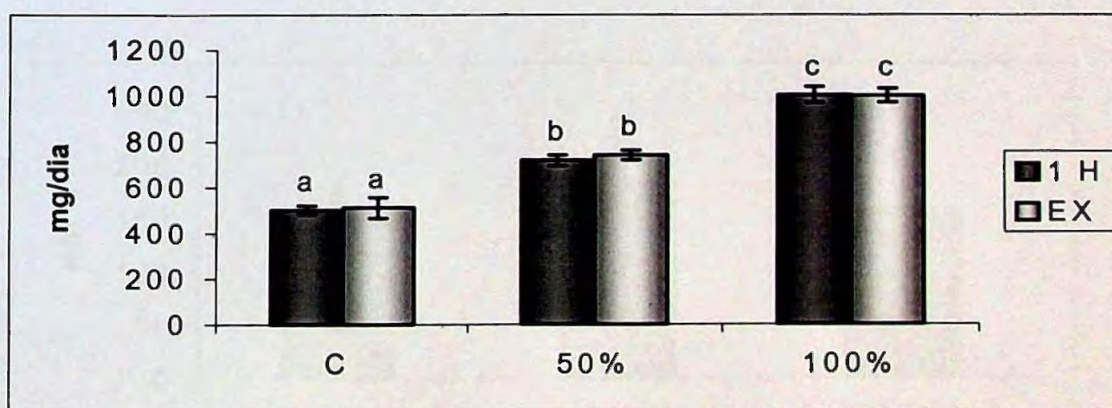


Figura 4. Estimativa de consumo diário de aminoácidos de cadeia ramificada dos grupos experimentais.

Verificou-se diferença significativa de aproximadamente 50 % e 100 % no consumo diário de ACR dos grupos suplementados em relação aos grupos controle.

## 5.2 Parâmetro de rendimento

### 5.2.1 Tempo de tolerância ao esforço

De acordo com a tabela 14, observou-se que não houve diferenças significativas no rendimento entre os grupos submetidos à exaustão.

Tabela 14. Tempo de tolerância ao esforço (minutos) dos grupos submetidos à exaustão com dieta controle e suplementada (50 % e 100 % de ACR)

| Controle         | 50 %             | 100 %            | P     |      |     |
|------------------|------------------|------------------|-------|------|-----|
|                  |                  |                  | Dieta | Cond | Int |
| Exaustão         | Exaustão         | Exaustão         |       |      |     |
| 150 <sup>a</sup> | 183 <sup>a</sup> | 158 <sup>a</sup> | 0,273 | —    | —   |
| ± 16             | ± 42             | ± 36             |       |      |     |

Dados expressos como média ± desvio-padrão.

Diferenças significativas entre os grupos/variável ( $p < 0,05$ ).

Valores na mesma linha apresentam a mesma letra quando não diferem significativamente.

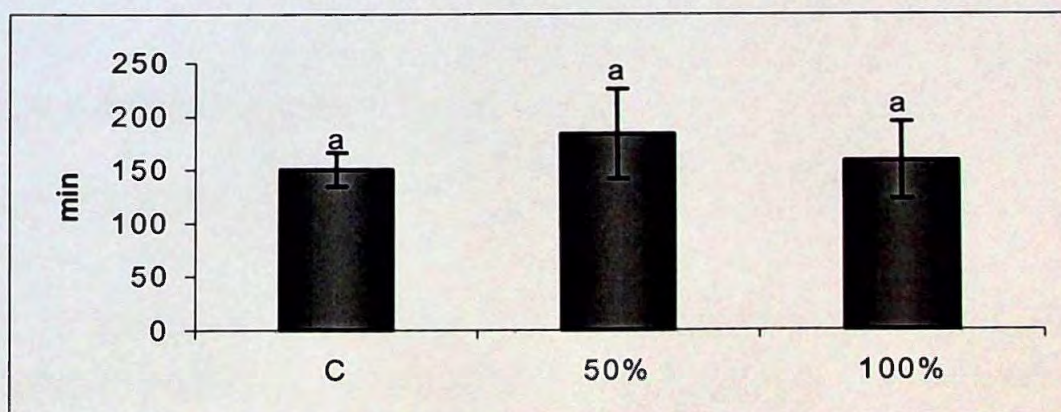


Figura 5. Tempo total de tolerância ao esforço dos grupos treinados submetidos à exaustão

### 5.3 Parâmetro de avaliação do treinamento

#### 5.3.1 Atividade máxima da enzima citrato sintase

De acordo com a tabela 15, os grupos treinados por 1 hora e os grupos submetidos à exaustão apresentaram aumento significativo na atividade da enzima citrato sintase (94%) em relação aos seus respectivos grupos sedentários.

Tabela 15. Atividade máxima da enzima citrato sintase no músculo sóleo ( $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{g}$  de tecido) nos grupos sedentários e treinados

| SED               | 1 H               | EX                | P     |   |
|-------------------|-------------------|-------------------|-------|---|
| 3,37 <sup>a</sup> | 6,49 <sup>b</sup> | 6,55 <sup>b</sup> | 0,000 | — |
| $\pm 0,73$        | $\pm 1,2$         | $\pm 1,47$        |       |   |

Dados expressos como média  $\pm$  desvio-padrão

Diferenças significativas entre os grupos/variável ( $p < 0,05$ )

Valores na mesma linha apresentam a mesma letra quando não diferem significativamente.

### 5.4 Parâmetros Plasmáticos

#### 5.4.1 Glicose

Conforme a tabela 16 e a figura 6, observou-se que não houve diferenças estatisticamente significantes na concentração plasmática de glicose nos grupos estudados com relação às dietas.

Entretanto, verificou-se diminuição da glicose plasmática de aproximadamente 60 % nos grupos submetidos à exaustão em relação aos grupos na condição de 1 hora de natação.

Tabela 16. Concentração plasmática de glicose (mg/dL) dos grupos experimentais nas condições de 1 hora e exaustão, com dieta controle e suplementada (50 % e 100 % de ACR)

| Controle         |                 | 50 %             |                 | 100 %            |                 | P     |       |       |
|------------------|-----------------|------------------|-----------------|------------------|-----------------|-------|-------|-------|
| Exaustão         | Exaustão        | Exaustão         | Exaustão        | Exaustão         | Exaustão        | Dieta | Cond  | Int   |
| 130 <sup>a</sup> | 48 <sup>b</sup> | 127 <sup>a</sup> | 54 <sup>b</sup> | 115 <sup>a</sup> | 48 <sup>b</sup> | 0,118 | 0,000 | 0,206 |
| ± 25             | ± 7,4           | ± 7              | ± 14            | ± 28             | ± 6             |       |       |       |

Dados expressos como média ± desvio-padrão.

Diferenças significativas entre os grupos/variável ( $p < 0,05$ ).

Valores na mesma linha apresentam a mesma letra quando não diferem significativamente.

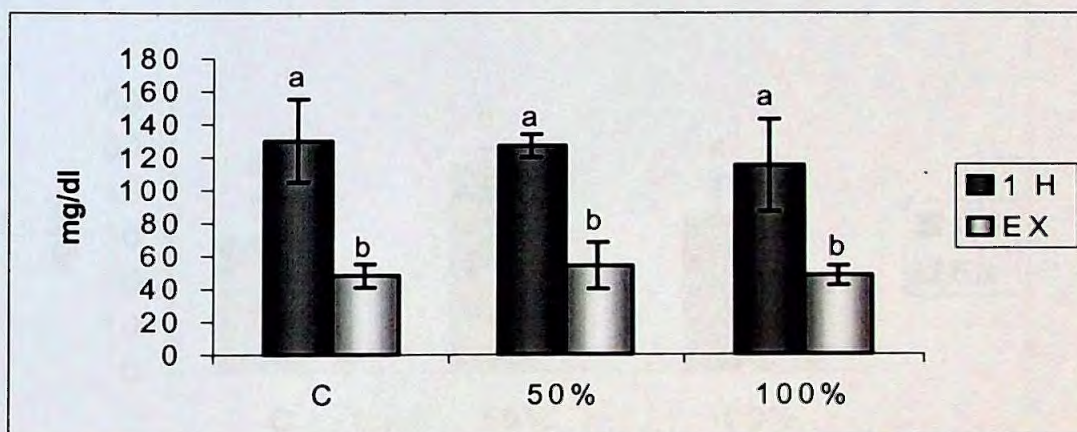


Figura 6. Concentração plasmática de glicose dos grupos experimentais.

#### 5.4.2 Índice glicose/insulina

Conforme apresentado na tabela 17 e na figura 7, o índice glicose/insulina apresentou aumento significativo no grupo que se exercitou pelo período de 1 hora com suplementação de 50% ACR em relação ao seu respectivo grupo exaustão.

Tabela 17. Índices glicose/insulina dos grupos experimentais nas condições de 1 hora e exaustão, com dieta controle e suplementada (50 % e 100 % de ACR)

| Controle          |                 | 50 %              |                   | 100 %             |                   | P     |       |       |
|-------------------|-----------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------|-------|-------|
| Exaustão          | Exaustão        | Exaustão          | Exaustão          | Exaustão          | Exaustão          | Dieta | Cond  | Int   |
| 29,4 <sup>a</sup> | 18 <sup>a</sup> | 45,3 <sup>b</sup> | 23,8 <sup>a</sup> | 34,2 <sup>a</sup> | 21,8 <sup>a</sup> | 0,000 | 0,315 | 0,206 |
| ± 9               | ± 6             | ± 4               | ± 2               | ± 9               | ± 9               |       |       |       |

Dados expressos como média ± desvio-padrão.

Diferenças significativas entre os grupos/variável ( $p < 0,05$ ).

Valores na mesma linha apresentam a mesma letra quando não diferem significativamente.

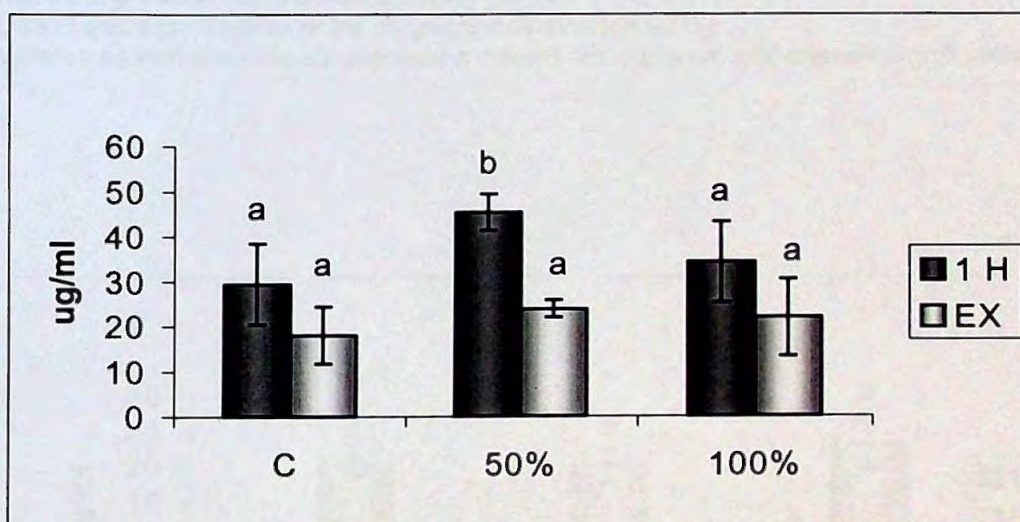


Figura 7. Índices glicose/ insulina dos grupos experimentais.

### 5.4.3 Amônia

De acordo com os resultados apresentados na tabela 18 e na figura 8, o grupo que se exercitou por 1 h e recebeu 100 % de suplementação apresentou aumento significativo de 126 % em relação ao grupo 50 %, e uma tendência de aumento de 60 % em relação ao controle.

Cabe ressaltar que os animais submetidos à exaustão apresentaram aumento médio de 296 % de amônia plasmática em relação aos grupos que se exercitaram por 1 h.

Tabela 18. Concentração plasmática de amônia ( $\mu\text{g/mL}$ ) dos grupos experimentais nas condições de 1 hora e exaustão, com dieta controle e suplementada (50 % e 100 % de ACR)

| Controle          |                   | 50 %             |                   | 100 %            |                   | P     |       |       |
|-------------------|-------------------|------------------|-------------------|------------------|-------------------|-------|-------|-------|
| 1 H               | EX                | 1 H              | EX                | 1 H              | EX                | Dieta | Cond  | Int   |
| 4,8 <sup>ac</sup> | 20,0 <sup>b</sup> | 3,4 <sup>c</sup> | 20,0 <sup>b</sup> | 7,7 <sup>a</sup> | 23,0 <sup>b</sup> | 0,000 | 0,000 | 0,704 |
| $\pm 0,8$         | $\pm 1,2$         | $\pm 0,7$        | $\pm 2,3$         | $\pm 0,6$        | $\pm 3,7$         |       |       |       |

Dados expressos como média  $\pm$  desvio-padrão.

Diferenças significativas entre os grupos/variável ( $p < 0,05$ ).

Valores na mesma linha apresentam a mesma letra quando não diferem significativamente.

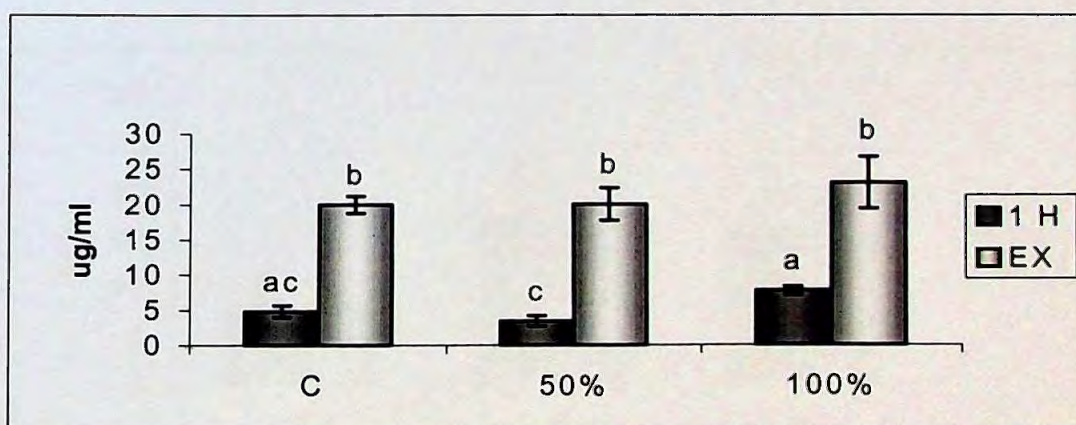


Figura 8. Concentração plasmática de amônia dos grupos experimentais.

#### 5.4.4 Triptofano total

Observou-se, conforme a tabela 19 e a figura 9, que os grupos suplementados, em ambas as condições, apresentaram um aumento médio de

115 % na concentração plasmática de triptofano total, em relação aos grupos controle.

Tabela 19. Concentração plasmática de triptofano total ( $\mu\text{g/mL}$ ) dos grupos experimentais nas condições de 1 hora e exaustão, com dieta controle e suplementada (50 % e 100 % ACR)

| Controle         |                  | 50 %              |                   | 100 %             |                   | P     |       |       |
|------------------|------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------|-------|-------|
| 1 H              | EX               | 1 H               | EX                | 1 H               | EX                | Dieta | Cond  | Int   |
| 8,1 <sup>a</sup> | 8,1 <sup>a</sup> | 16,9 <sup>b</sup> | 20,9 <sup>b</sup> | 15,7 <sup>b</sup> | 16,1 <sup>b</sup> | 0,000 | 0,180 | 0,255 |
| $\pm 1,5$        | $\pm 1,8$        | $\pm 3,8$         | $\pm 2,9$         | $\pm 4,3$         | $\pm 3,8$         |       |       |       |

Dados expressos como média  $\pm$  desvio-padrão.

Diferenças significativas entre os grupos/variável ( $p < 0,05$ ).

Valores na mesma linha apresentam a mesma letra quando não diferem significativamente.

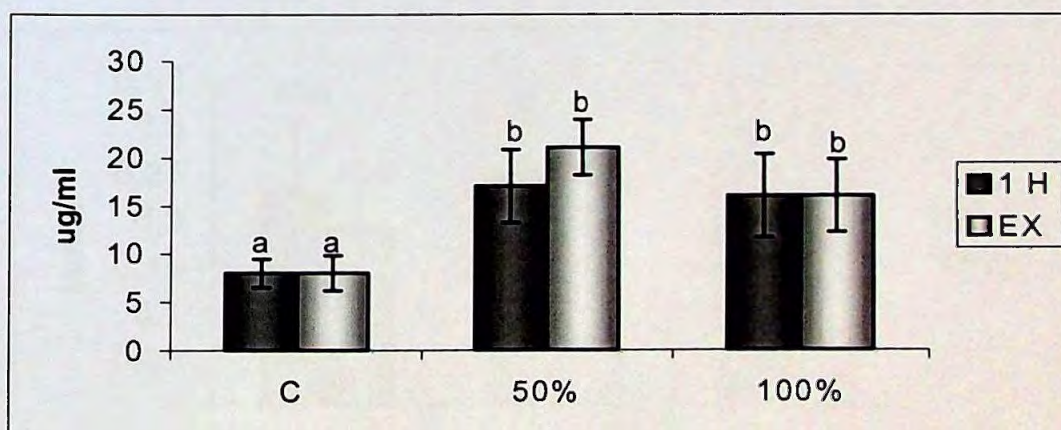


Figura 9. Concentração plasmática de TRP total dos grupos experimentais.

#### 5.4.5 Ácidos graxos livres

Conforme apresentado na tabela 20 e na figura 10, as concentrações de ácidos graxos livres não apresentaram diferenças estatísticas com relação à

condição de exercício (1 hora e exaustão), diferindo-se somente entre as suplementações para a condição de 1 hora, uma vez que observou-se redução significativa de 16 % do grupo que recebeu 100 % de suplementação em relação ao grupo que recebeu 50 % de suplementação.

Tabela 20. Concentração plasmática de ácidos graxos livres (mmol/L) dos grupos experimentais nas condições de 1 hora e exaustão, com dieta controle e suplementada (50 % e 100 % de ACR)

| Controle            |                     | 50 %              |                     | 100 %             |                     | P     |      |      |
|---------------------|---------------------|-------------------|---------------------|-------------------|---------------------|-------|------|------|
| 1 H                 | EX                  | 1 H               | EX                  | 1 H               | EX                  | Dieta | Cond | Int  |
| 0,23 <sup>abc</sup> | 0,19 <sup>abc</sup> | 0,25 <sup>b</sup> | 0,19 <sup>abc</sup> | 0,21 <sup>c</sup> | 0,18 <sup>abc</sup> | 0,02  | 0,35 | 0,06 |
| ± 0,07              | ± 0,04              | ± 0,04            | ± 0,05              | ± 0,05            | ± 0,01              |       |      |      |

Dados expressos como média ± desvio-padrão.

Diferenças significativas entre os grupos/variável ( $p < 0,05$ ).

Valores na mesma linha apresentam a mesma letra quando não diferem significativamente.

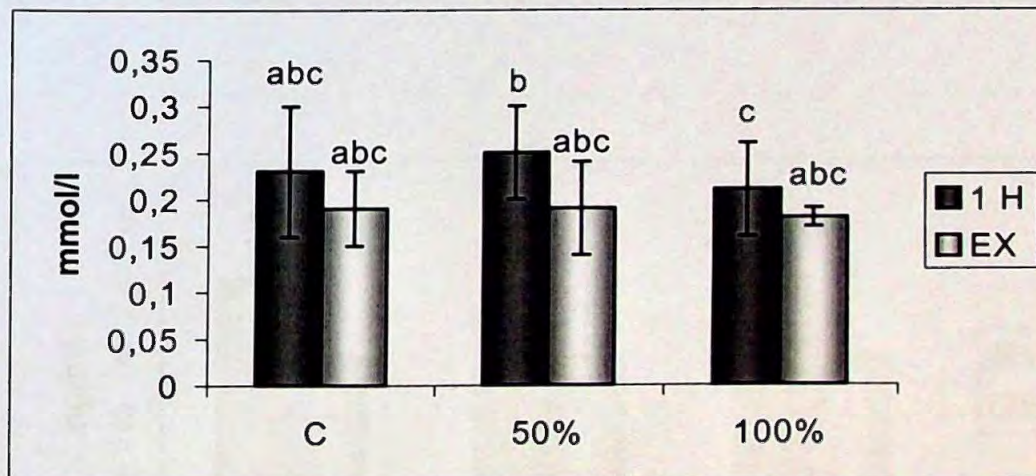


Figura 10. Concentração plasmática de AGL dos grupos experimentais.

## 5.5 Parâmetros séricos

### 5.5.1 Insulina

De acordo com a tabela 21 e a figura 11, não houve diferenças estatísticas em relação a concentração de insulina sérica entre os grupos experimentais com relação às dietas e condições.

Tabela 21. Concentração sérica de insulina (ng/mL) dos grupos experimentais nas condições de 1 hora e exaustão, com dieta controle e suplementada (50 % e 100 % de ACR)

| Controle         |                  | 50 %             |                  | 100 %            |                  | P     |       |       |
|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|-------|-------|-------|
| 1 H              | EX               | 1 H              | EX               | 1 H              | EX               | Dieta | Cond  | Int   |
| 4,1 <sup>a</sup> | 2,9 <sup>a</sup> | 3,7 <sup>a</sup> | 2,9 <sup>a</sup> | 4,1 <sup>a</sup> | 2,9 <sup>a</sup> | 0,513 | 0,684 | 0,754 |
| ± 0,8            | ± 0,9            | ± 0,6            | ± 0,9            | ± 0,8            | ± 0,9            |       |       |       |

Dados expressos como média ± desvio-padrão.

Diferenças significativas entre os grupos/variável ( $p < 0,05$ ).

Valores na mesma linha apresentam a mesma letra quando não diferem significativamente.

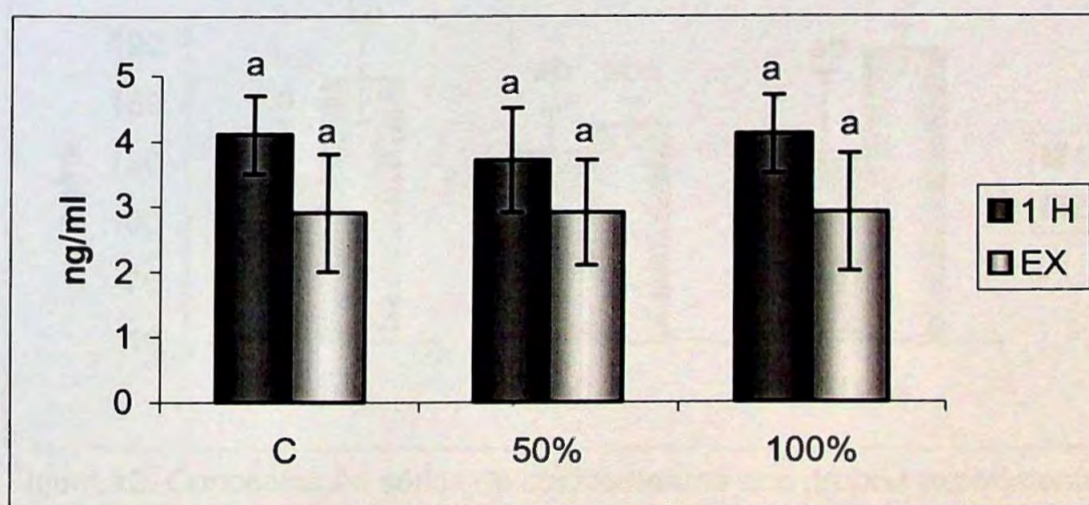


Figura 11. Concentração sérica de insulina dos grupos experimentais.

### 5.5.2 Corticosterona

Conforme os resultados da tabela 22 e da figura 12, constatou-se que as concentrações séricas de corticosterona apresentaram diferenças significantes nas dietas controle e 100 % para a condição de exaustão em relação à condição 1 hora, com aumento de 42 % e 38,5 %, respectivamente. Quanto às dietas, não foram observadas diferenças estatísticas significantes.

Tabela 22. Concentração sérica de corticosterona (ng/mL) dos grupos experimentais nas condições de 1 hora e exaustão, com dieta controle e suplementada (50 % e 100 % de ACR)

| Controle         |                   | 50 %              |                    | 100 %             |                  | P     |       |       |
|------------------|-------------------|-------------------|--------------------|-------------------|------------------|-------|-------|-------|
| 1 H              | EX                | 1 H               | EX                 | 1 H               | EX               | Dieta | Cond  | Int   |
| 122 <sup>a</sup> | 173 <sup>bc</sup> | 136 <sup>ab</sup> | 150 <sup>abc</sup> | 135 <sup>ab</sup> | 187 <sup>c</sup> | 0,212 | 0,000 | 0,128 |
| ± 29             | ± 22              | ± 21              | ± 12               | ± 41              | ± 12             |       |       |       |

Dados expressos como média ± desvio-padrão.

Diferenças significativas entre os grupos/variável ( $p < 0,05$ ).

Valores na mesma linha apresentam a mesma letra quando não diferem significamente.

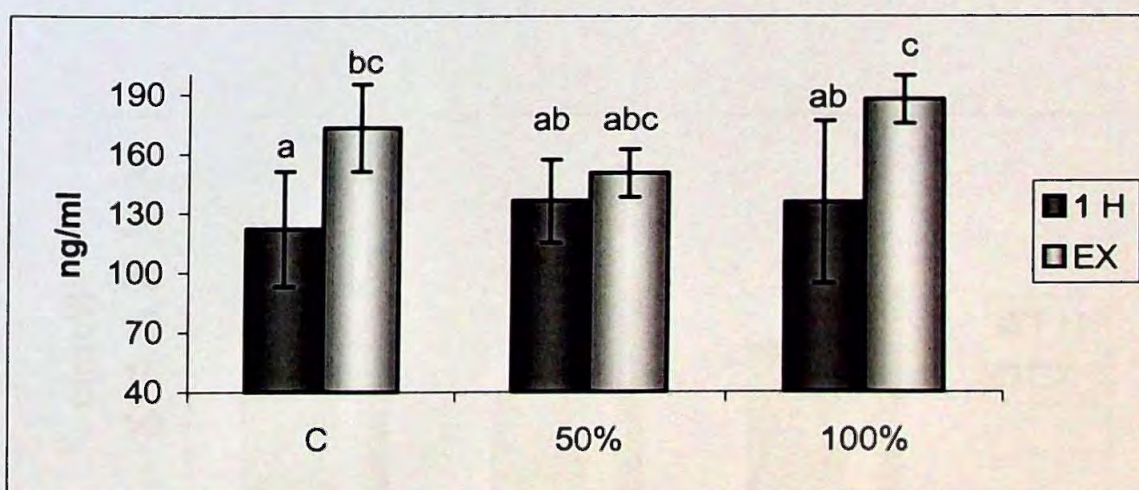


Figura 12. Concentração sérica de corticosterona dos grupos experimentais.

## 5.6 Parâmetro sanguíneo

### 5.6.1 Lactato

Conforme a tabela 23 e a figura 13, não houve diferenças estatisticamente significantes nas concentrações de lactato sanguíneo entre os grupos com relação às dietas. Porém, os grupos submetidos à exaustão apresentaram um aumento médio de 55,2 % em relação aos grupos com 1 hora de natação.

Tabela 23. Concentração sanguínea de lactato (mmol/L) dos grupos experimentais nas condições de 1 hora e exaustão, com dieta controle e suplementada (50 % e 100 % de ACR)

| Controle        |                 | 50 %            |                 | 100 %           |                 | P     |       |       |
|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-------|-------|-------|
| 1 H             | EX              | 1 H             | EX              | 1 H             | EX              | Dieta | Cond  | Int   |
| 18 <sup>a</sup> | 28 <sup>b</sup> | 13 <sup>a</sup> | 24 <sup>b</sup> | 18 <sup>a</sup> | 24 <sup>b</sup> | 0,05  | 0,000 | 0,276 |
| ± 3             | ± 5             | ± 1,5           | ± 1,7           | ± 5             | ± 1,8           |       |       |       |

Dados expressos como média ± desvio-padrão.

Diferenças significativas entre os grupos/variável ( $p < 0,05$ ).

Valores na mesma linha apresentam a mesma letra quando não diferem significativamente.

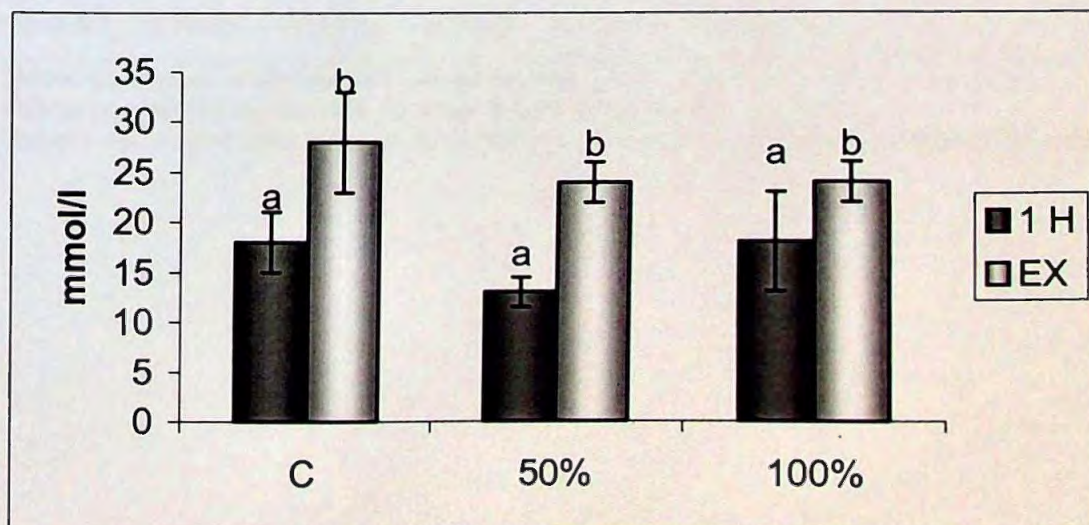


Figura 13. Concentração sanguínea de lactato dos grupos experimentais.

## 5.7 Parâmetros teciduais

### 5.7.1 Glicogênio hepático

De acordo com a tabela 24 e a figura 14, os grupos que receberam dieta com 50 % e 100 % de ACR e foram submetidos ao protocolo de exaustão apresentaram diminuição significativa da concentração de glicogênio hepático com relação aos grupos que nadaram por 1 hora.

As concentrações de glicogênio hepático dos grupos submetidos à 1 hora de natação, que foram suplementados com 50 % e 100 % de ACR, apresentaram aumento significativo de 43,7 % e 131,2 %, respectivamente, em relação ao grupo controle. Em relação aos grupos que nadaram até a exaustão, o grupo que recebeu 100 % de ACR apresentou aumento médio de 241 % em relação aos respectivos grupos (50 % e controle).

Tabela 24. Concentração de glicogênio hepático (mg/100 mg de tecido) dos grupos experimentais nas condições de 1 hora e exaustão, com dieta controle e suplementada (50 % e 100 % de ACR)

| Controle           |                   | 50 %               |                   | 100 %             |                   | P     |       |       |
|--------------------|-------------------|--------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------|-------|-------|
| 1 H                | EX                | 1 H                | EX                | 1 H               | EX                | Dieta | Cond  | Int   |
| 0,16 <sup>ac</sup> | 0,08 <sup>a</sup> | 0,23 <sup>cd</sup> | 0,09 <sup>a</sup> | 0,37 <sup>b</sup> | 0,29 <sup>d</sup> | 0,000 | 0,000 | 0,216 |
| ± 0,01             | ± 0,03            | ± 0,03             | ± 0,02            | ± 0,09            | ± 0,05            |       |       |       |

Dados expressos como média ± desvio-padrão.

Diferenças significativas entre os grupos/variável ( $p < 0,05$ ).

Valores na mesma linha apresentam a mesma letra quando não diferem significativamente.

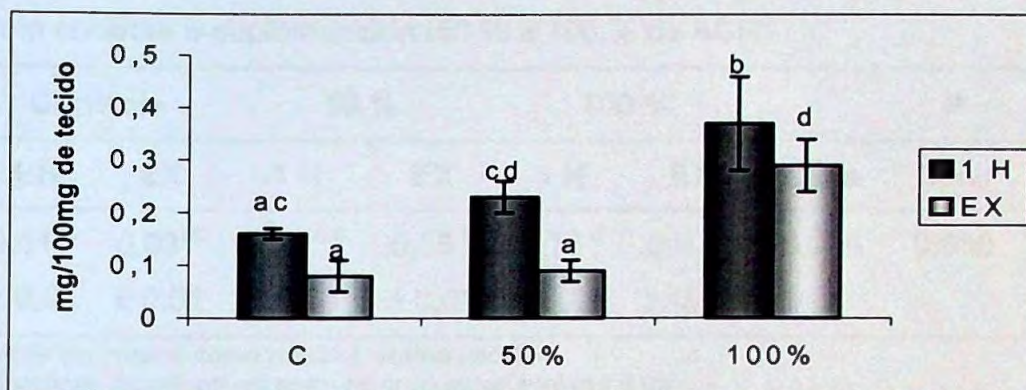


Figura 14. Concentração de glicogênio hepático dos grupos experimentais.

### 5.7.2 Glicogênio muscular – gastrocnêmio

Como verificado na tabela 25 e na figura 15, as concentrações de glicogênio do músculo gastrocnêmio nos grupos suplementados que nadaram até a exaustão apresentaram diminuição significativa de 57 %, em média, em relação aos grupos que nadaram 1 hora. No entanto, os grupos controle apresentaram apenas uma tendência de diminuição nesses resultados.

Nos grupos que foram submetidos ao protocolo de 1 hora de natação, observou-se aumento significativo de 45 %, no grupo que consumiu 100 % de ACR em relação ao grupo controle. No entanto, os grupos submetidos ao protocolo de exaustão não apresentaram diferenças estatísticas com relação ao tipo de dieta.

Tabela 25. Concentração de glicogênio muscular - gastrocnêmio (mg/100 mg de tecido) dos grupos experimentais nas condições de 1 hora e exaustão, com dieta controle e suplementada (50 % e 100 % de ACR)

| Controle           |                    | 50 %                |                   | 100 %             |                    | P     |       |       |
|--------------------|--------------------|---------------------|-------------------|-------------------|--------------------|-------|-------|-------|
| 1 H                | EX                 | 1 H                 | EX                | 1 H               | EX                 | Dieta | Cond  | Int   |
| 0,11 <sup>ac</sup> | 0,03 <sup>bc</sup> | 0,12 <sup>acd</sup> | 0,05 <sup>b</sup> | 0,16 <sup>d</sup> | 0,07 <sup>bc</sup> | 0,000 | 0,000 | 0,576 |
| ± 0,01             | ± 0,01             | ± 0,03              | ± 0,01            | ± 0,06            | ± 0,02             |       |       |       |

Dados expressos como média ± desvio-padrão.

Diferenças significativas entre os grupos/variável ( $p < 0,05$ ).

Valores na mesma linha apresentam a mesma letra quando não diferem significativamente.

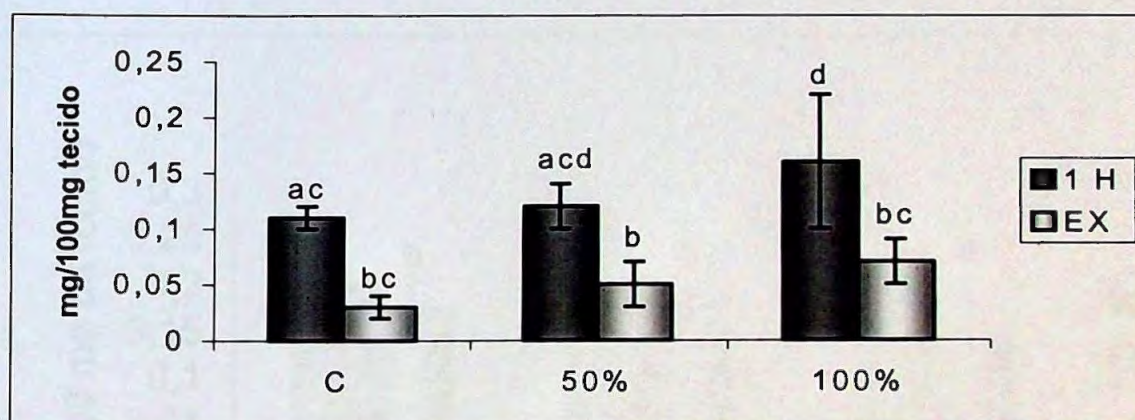


Figura 15. Concentração de glicogênio muscular – gastrocnêmio dos grupos experimentais.

### 5.7.3 Glicogênio muscular – sóleo

Observou-se, conforme a tabela 26 e a figura 16, que houve diminuição significativa nas concentrações de glicogênio do músculo sóleo, de 20 %, em média, na condição de exaustão em relação a condição de 1 hora. Entretanto, não houve diferenças significantes com relação às dietas.

Tabela 26. Concentração de glicogênio muscular - sóleo (mg/100 mg de tecido) dos grupos experimentais nas condições de 1 hora e exaustão, com dieta controle e suplementada (50 % e 100 % de ACR)

| Controle         |                   | 50 %             |                   | 100 %             |                   | P     |       |       |
|------------------|-------------------|------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------|-------|-------|
| 1 H              | EX                | 1 H              | EX                | 1 H               | EX                | Dieta | Cond  | Int   |
| 0,2 <sup>a</sup> | 0,17 <sup>b</sup> | 0,2 <sup>a</sup> | 0,18 <sup>b</sup> | 0,21 <sup>a</sup> | 0,15 <sup>b</sup> | 0,479 | 0,015 | 0,508 |
| ± 0,03           | ± 0,03            | ± 0,03           | ± 0,02            | ± 0,05            | ± 0,05            |       |       |       |

Dados expressos como média ± desvio-padrão.

Diferenças significativas entre os grupos/variável ( $p < 0,05$ ).

Valores na mesma linha apresentam a mesma letra quando não diferem significativamente.

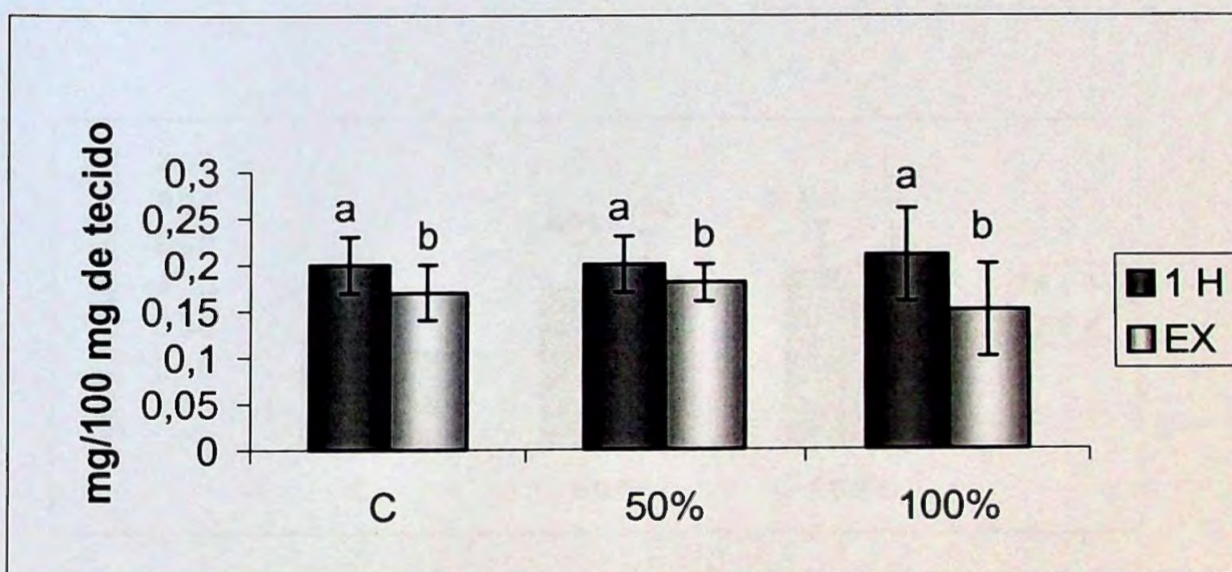


Figura 16. Concentração de glicogênio muscular - sóleo dos grupos experimentais.

#### 5.7.4 5-HT – hipotálamo

Conforme os resultados das concentrações de 5-HT (hipotálamo) descritos na tabela 27 e figura 17, foram observadas diferenças estatísticas

significantes somente no grupo que nadou até a exaustão e recebeu 100 % de ACR em relação ao grupo controle, com aumento de 41,2 %.

Tabela 27. Concentração de 5-HT do hipotálamo (pg/mg de tecido fresco) dos grupos experimentais nas condições de 1 hora e exaustão, com dieta controle e suplementada (50 % e 100 % de ACR)

| Controle           |                  | 50 %               |                    | 100 %             |                  | P     |       |       |
|--------------------|------------------|--------------------|--------------------|-------------------|------------------|-------|-------|-------|
| 1 H                | EX               | 1 H                | EX                 | 1 H               | EX               | Dieta | Cond  | Int   |
| 267 <sup>acd</sup> | 327 <sup>c</sup> | 395 <sup>abc</sup> | 416 <sup>abc</sup> | 437 <sup>bd</sup> | 462 <sup>b</sup> | 0,000 | 0,833 | 0,809 |
| ± 57               | ± 113            | ± 106              | ± 113              | ± 115             | ± 138            |       |       |       |

Dados expressos como média ± desvio-padrão.

Diferenças significativas entre os grupos/variável ( $p < 0,05$ ).

Valores na mesma linha apresentam a mesma letra quando não diferem significativamente.

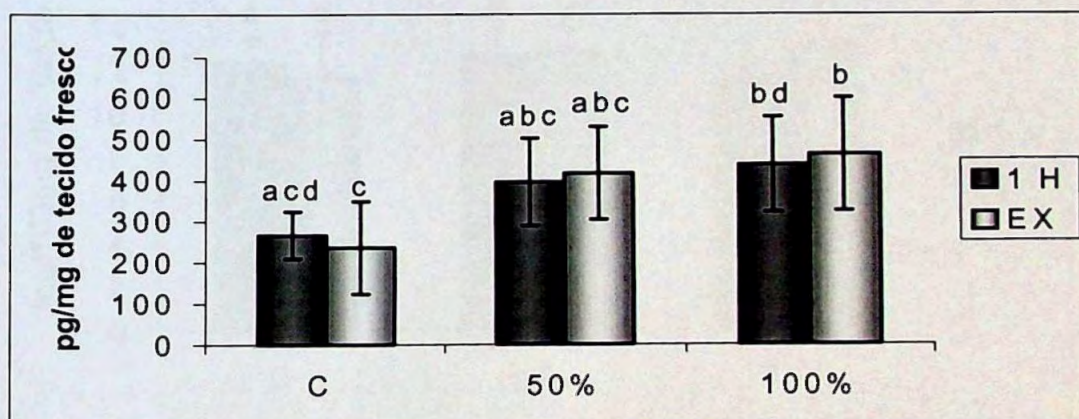


Figura 17. Concentração de 5-HT do hipotálamo dos grupos experimentais.

### 5.7.5 Proteína hepática

Conforme a tabela 28 e a figura 18, observou-se que não houve diferenças significativas na concentração de proteína hepática nos grupos estudados.

Tabela 28. Concentração de proteína hepática (mg/100 mg de tecido) dos grupos experimentais nas condições de 1 hora e exaustão, com dieta controle e suplementada (50 % e 100 % de ACR)

| Controle          |                   | 50 %              |                   | 100 %             |                   | P     |       |       |
|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------|-------|-------|
| 1 H               | EX                | 1 H               | EX                | 1 H               | EX                | Dieta | Cond  | Int   |
| 12,4 <sup>a</sup> | 11,7 <sup>a</sup> | 12,7 <sup>a</sup> | 12,8 <sup>a</sup> | 11,6 <sup>a</sup> | 13,3 <sup>a</sup> | 0,730 | 0,831 | 0,403 |
| ± 1,1             | ± 2,1             | ± 1,2             | ± 1,1             | ± 0,4             | ± 1,7             |       |       |       |

Dados expressos como média ± desvio-padrão.

Diferenças significativas entre os grupos/variável ( $p < 0,05$ ).

Valores na mesma linha apresentam a mesma letra quando não diferem significativamente.

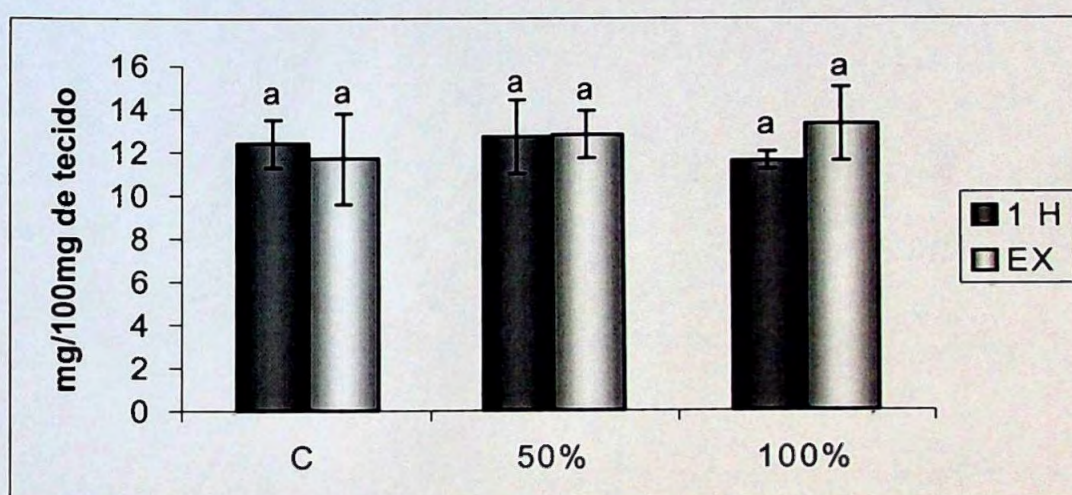


Figura 18. Concentração de proteína hepática dos grupos experimentais.

### 5.7.6 Proteína muscular – gastrocnêmio

Conforme a tabela 29 e a figura 19, observou-se que não houve diferenças significativas na concentração de proteína do músculo gastrocnêmio nos grupos estudados.

BIBLIOTECA  
Faculdade de Ciências Farmacêuticas  
Universidade de São Paulo

Tabela 29. Concentração de proteína muscular - gastrocnêmio (mg/100 mg de tecido) dos grupos experimentais nas condições de 1 hora e exaustão, com dieta controle e suplementada (50 % e 100 % de ACR)

| Controle          |                   | 50 %            |                   | 100 %           |                   | P     |       |       |
|-------------------|-------------------|-----------------|-------------------|-----------------|-------------------|-------|-------|-------|
| 1 H               | EX                | 1 H             | EX                | 1 H             | EX                | Dieta | Cond  | Int   |
| 10,4 <sup>a</sup> | 10,1 <sup>a</sup> | 10 <sup>a</sup> | 10,5 <sup>a</sup> | 11 <sup>a</sup> | 11,4 <sup>a</sup> | 0,401 | 0,985 | 0,496 |
| ± 0,95            | ± 0,94            | ± 0,95          | ± 1,4             | ± 0,73          | ± 2,2             |       |       |       |

Dados expressos como média ± desvio-padrão.

Diferenças significativas entre os grupos/variável ( $p < 0,05$ ).

Valores na mesma linha apresentam a mesma letra quando não diferem significativamente.

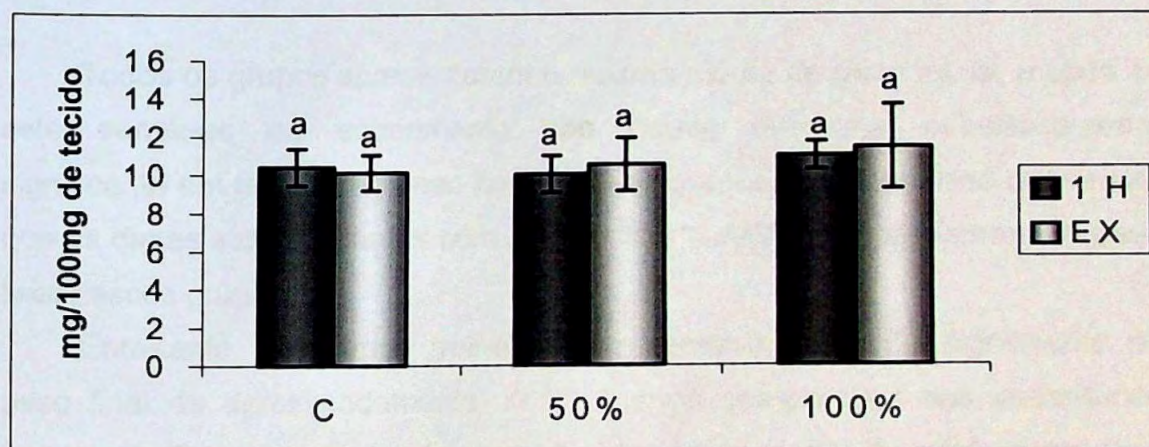


Figura 19. Concentração de proteína do músculo gastrocnêmio dos grupos experimentais.

## 6. DISCUSSÃO

No presente experimento foram estudados os efeitos de duas concentrações ACR, na forma de suplementação crônica pela dieta, em ratos submetidos a protocolo de treinamento em natação próximo ao limiar anaeróbio metabólico, visando estabelecer sua relação com alguns parâmetros indicativos de fadiga. Todos os animais foram submetidos ao mesmo protocolo de treinamento durante as seis semanas, sendo que no último dia do experimento foram sacrificados em duas condições: após 1 hora de natação e após o teste de exaustão.

### 6.1 Parâmetros biométricos

Todos os grupos apresentaram a mesma média de peso inicial, e após as sete semanas de experimento não houve diferença estatisticamente significativa em relação ao peso final entre os grupos treinados. Isso demonstra que as dietas suplementadas com 50 % e 100 % ACR não interferiram no peso final desses grupos.

Entretanto, os grupos treinados apresentaram redução significativa no peso final de aproximadamente 12 % quando comparados aos sedentários (anexo 1). Estes resultados foram atribuídos ao aumento do gasto energético provocado pelo exercício físico (CALLES-ESCANDON *et al.*, 1992). Como não houve alteração no consumo de ração entre os grupos, esse fator não influenciou no peso final. Estes resultados estão de acordo com os resultados de SHIMOMURA *et al.* (2000), que não encontraram diferença quanto ao consumo de ração e peso final dos animais submetidos ao treinamento físico e a suplementação com 4,75% e 6,175% de ACR.

Desse modo, tanto a suplementação quanto o protocolo de treinamento não acarretaram em alterações do consumo de ração entre os grupos.

Cabe ressaltar que os grupos experimentais estudados apresentaram resultados semelhantes em relação aos parâmetros biométricos, diferindo-se

somente na estimativa de consumo de ACR, o que permite concluir que os resultados do presente trabalho refletem o efeito da variável suplementação e do teste de tolerância ao esforço.

Na literatura é possível constatar diferentes técnicas associadas à administração de aminoácidos de cadeia ramificada ou outros aminoácidos. Tais métodos podem ser: administração por gavagem, conforme MARQUEZI (1999), que utilizou 150 mg/kg/dia de aspartato e asparagina diluídos em 2 ml de água; por injeção intraperitoneal, segundo CALDERS (1997, 1999), que administrou 30 mg de ACR, sendo 10 mg de cada (leucina, isoleucina e valina) diluídos em 1 ml de solução salina; através da água do bebedouro, de acordo com LANCHA Jr *et al.* (1995), que ofereceram 45 mg/kg/dia de asparagina e aspartato e 90 mg/kg/dia de carnitina diluídos em água; através da ração, conforme ROSSI (2001), que acrescentou 50 % da recomendação de ACR na ração preparada, tal como no presente estudo.

Seguindo a metodologia do último estudo citado, também optou-se nesse trabalho pela suplementação crônica pela ração. A utilização das técnicas de gavagem ou injeção intraperitoneal, para a quantidade de ACR do estudo, apresentaria limitações quanto à solubilidade dos aminoácidos e administração com volume fixo, sendo por isso contra-indicada. No caso da água do bebedouro, pode ser difícil quantificar o volume de ACR consumido devido ao desperdício de água, que no caso da ração, é possível de se estimar. Não obstante, a suplementação via dieta seria uma forma fisiologicamente mais aceitável quando comparada às técnicas impostas, como gavagem e injeção intraperitoneal. A ração utilizada foi oferecida em pó, e continha a composição nutricional indicada para roedores adultos sugerida pelo *American Institute of Nutrition* (AIN-93).

## 6.2 Parâmetro de rendimento

O tempo de natação dos grupos submetidos ao teste de tolerância ao esforço é o principal parâmetro para se avaliar os efeitos das suplementações.

com ACR em relação ao desempenho físico, o que justifica a discussão desse resultado junto com outros parâmetros indicativos de fadiga.

Os grupos exercitados até a exaustão não apresentaram diferenças significativas em relação ao tempo de tolerância ao esforço, portanto, as suplementações não promoveram alterações significativas no desempenho dos animais exercitados nessa intensidade. Estes resultados estão de acordo com os resultados de FINOTTI *et al.* (1998), que não observaram diferenças no tempo de tolerância ao esforço em humanos suplementados com ACR e submetidos a testes em intensidades supralimiar.

No entanto, o efeito da suplementação de ACR em relação ao desempenho em exercício físico prolongado é controverso, visto que muitos pesquisadores têm reportado alguns benefícios (BLOMSTRAND *et al.*, 1991; HEFLER *et al.*, 1995; MITTLEMAN, RICCI e BAILEY, 1998; CALDERS, 1997 e 1999; SHIMOMURA *et al.*, 2000; ROSSI, 2001), enquanto outros não observaram nenhum efeito ergogênico (PERTRUZZELLO *et al.*, 1992; VERGER *et al.*, 1994; VAN HALL *et al.*, 1995; GALIANO *et al.*, 1991 *apud* MITTLEMAN, RICCI e BAILEY, 1998). Todavia, a existência de muitas diferenças entre os protocolos experimentais pode justificar essas discrepâncias.

### 6.3 Parâmetros bioquímicos

Quanto ao perfil glicêmico no presente estudo, não foram verificadas diferenças significativas entre as três dietas. No entanto, uma diminuição significativa (60% em média) ocorreu quando comparou-se a condição de exaustão com a condição de 1 hora.

Essa redução na glicemia da condição de 1 hora para exaustão está de acordo com os resultados de LANCHI JR (1991). Segundo SAHLIN (1992), a concentração de glicose plasmática diminui após exercício prolongado, com conseqüente depleção nos estoques de glicogênio hepático, comprometendo a funcionalidade do sistema nervoso central (SNC). Deste modo, a manutenção

da glicemia durante a atividade física, a partir da gliconeogênese e glicogenólise hepáticas, é de extrema importância para a continuidade do esforço (HOLLOSZY *et al.*, 1998), devido à glicose sanguínea ser oxidada, para obtenção de energia, tanto pelo tecido muscular quanto pelo SNC. O sistema nervoso central, ao contrário do tecido muscular, utiliza preferencialmente glicose sanguínea como substrato energético, e sua atividade pode ser comprometida quando ocorre o estado de hipoglicemia (NEWSHOLME e LEECH, 1988). Durante a atividade física a síntese hepática de glicose é menor que sua captação e utilização periférica, portanto a fadiga pode ser decorrente do comprometimento da atividade do SNC em decorrência da diminuição da glicemia.

Nesse estudo, os grupos submetidos ao protocolo de exaustão não apresentaram tempos de natação distintos, o mesmo ocorreu para as concentrações de glicose, que não apresentaram diferenças estatísticas significantes. Assim, as suplementações não influenciaram a concentração de glicose plasmática nessa condição de exaustão, demonstrando somente o efeito do exercício exaustivo em relação à condição 1 hora. Portanto, a diminuição da glicemia pode ter contribuído parcialmente para a ocorrência da fadiga, nos grupos submetidos a exaustão, uma vez que as concentrações de glicose plasmática nesse grupo foi 60 % menor em relação ao grupo 1 hora .

A resposta insulinêmica demonstrou, também, não ser influenciada pelas suplementações, visto que não houve diferenças significativas entre as dietas. No entanto, quando comparadas as respostas dos grupos submetidos a condição exaustão em relação a condição 1 hora verificou-se uma tendência de diminuição de 29 %, em média.

A captação de glicose circulante pelo tecido é mediada por proteínas de transporte específicas denominadas GLUTs. A maior atividade de GLUT 4, encontrada principalmente no músculo, é determinada principalmente pela ação da insulina ou contração muscular, sendo que em condições de repouso esses transportadores permanecem inativos em vesículas do citoplasma celular (COSTA *et al.*, 1999). Com o estímulo da insulina e/ou a contração muscular os GLUTs migram destas vesículas para a membrana celular e se

fundem a ela, o que promove a captação de glicose circulante. Esse mecanismo de captação de glicose pela musculatura seria prejudicado por altas concentrações de glicosamina (LANCHA Jr, 1997; ROBINSON, SENS e BUSE, 1993) que é o produto final da via das hexosaminas. A síntese de glicosamina pode ser estimulada em situações com elevada síntese de amônia, devido, por exemplo, a suplementação crônica com ACR e/ou durante exercícios intensos e prolongados, como ocorrido nesse estudo.

Esse mecanismo pode explicar a tendência de diminuição de aproximadamente 58 % no índice glicose/insulina, o que justificaria o aumento da resistência insulínica nos grupos submetidos a exaustão.

Segundo PASQUALE (1997), durante exercício prolongado há um aumento das concentrações de glucagon e glicocorticóides, os quais podem promover uma diminuição na síntese e aumento da degradação protéica. A resposta fisiológica decorrente da diminuição da glicemia e insulina causadas pela natureza do teste exaustivo pode ocasionar o aumento dos hormônios contra-regulatórios (glucagon, catecolaminas e cortisol) para não comprometer o funcionamento do cérebro e outros tecidos que utilizam a glicose como combustível primordial (MAUGHAN, 2000). Sabe-se que a corticosterona é um hormônio relacionado com o estresse causado pelo exercício físico, uma vez que a estimulação do eixo hipotálamo-hipófise resulta na secreção do hormônio adrenocorticotrófico, e posteriormente na liberação de glicocorticóides (KOYAMA *et al.*, 1998).

Quanto às concentrações plasmáticas de corticosterona, foram observadas diferenças significativas quando comparou-se as dietas controle e 100 % de ACR para a condição de exaustão, as quais apresentaram aumento de 42 e 38 %, respectivamente, em relação à condição de 1 hora.

Conforme KOYAMA *et al.* (1998), ratos submetidos ao exercício agudo (esteira) apresentaram uma elevação significativa das concentrações séricas de corticosterona (2,5 vezes) após 120 minutos de exercício. No estudo de ROGERO (2002), os animais submetidos ao teste de exaustão (natação), em atividade próxima ao limiar metabólico, apresentaram aumento da concentração de corticosterona sérica de 2,5 a 3,1 vezes, e diminuição média

da insulina em aproximadamente 50 %, em relação aos seus respectivos grupos sedentários. ROSSI (2001) também observou diminuição significativa de aproximadamente 57 % na insulina sérica em ratos submetidos à exaustão (natação), em atividade moderada, em relação aos sedentários. Dessa forma, esses resultados estão em acordo com o presente trabalho, no qual houve um aumento significativo na corticosterona sérica de aproximadamente 2,5 vezes, e uma diminuição significativa de aproximadamente 3 vezes para a insulina sérica, nos grupos exercitados até a exaustão em relação aos sedentários, reforçando as considerações explicitadas de que esses parâmetros são alterados no exercício físico.

Quando observou-se as concentrações plasmáticas de amônia verificou-se que o grupo que se exercitou por 1 hora e recebeu 100 % de ACR apresentou um aumento significativo de 60 % e 126 % em relação aos grupos controle e 50 % de ACR, respectivamente. Os animais que foram submetidos ao protocolo de exaustão não apresentaram diferenças significantes entre as dietas. Quando comparou-se os animais que foram submetidos ao teste de exaustão com os animais na condição 1 hora foram encontrados aumentos significativos de 296 % em média.

A concentração de amônia plasmática aumenta durante o exercício (BANISTER *et al.*, 1985; ERIKSSON *et al.*, 1985 *apud* OKAMURA *et al.*, 1987) tanto de alta intensidade e curta duração como em exercícios prolongados (SAHLIN e BROBERG, 1990; SAHLIN, 1992), portanto sua síntese começa no início do exercício e aumenta progressivamente (HARGREAVES, 1995). A amônia circulante é captada pelo fígado e uma grande parte é detoxificada no próprio fígado pelo ciclo da uréia. Entretanto, a formação acelerada de amônia tende a exceder a detoxificação hepática, devido a diminuição do fluxo sanguíneo hepático durante exercício moderado cerca de 30%, e intenso cerca de 50-60 % (FELIG e WAHREN, 1971; OKAMURA *et al.*, 1987). Assim, o fluxo da amônia produzida na musculatura esquelética exercitada faz com que o fígado atue na detoxificação e o sangue, como difusor e reservatório temporal da amônia circulante. Alguns pesquisadores afirmam que a concentração plasmática de amônia é o parâmetro mais adequado de avaliação da

intensidade do exercício do que o lactato, já que sob condições de exercício estressante e extenuante a síntese de amônia é diretamente proporcional à atividade da musculatura (BANISTER *et al.*, 1985). Portanto, esta hiperamonemia pode se instalar *in situ* na musculatura levando à fadiga periférica. Essa crescente concentração de amônia no sangue começa a atuar em outros órgãos, como fígado e cérebro, podendo gerar fadiga central por excesso de amônia cerebral e incapacidade de detoxificação de amônia pelos órgãos periféricos. Outros possíveis fatores relacionados à hiperamonemia se referem ao aumento da permeabilidade da barreira hemato-encefálica aos aminoácidos neutros, ao aumento plasmático dos AGL, aos corpos cetônicos e à diminuição nos estoques de glicogênio muscular, hepático, cardíaco e cerebral (BANISTER e CAMERON, 1990). Por esta razão, vários trabalhos relacionam a hiperamonemia induzida pelo exercício prolongado tanto à fadiga central como periférica (MUTCH e BANISTER, 1983; BANISTER *et al.*, 1985; BIANCHI *et al.*, 1997; BANISTER e CAMERON, 1990; MITTLEMAN, RICCI e BAILEY, 1998).

De acordo com a literatura, a concentração plasmática de amônia em exercícios moderados (<50%  $VO_2$  max) não é alterada de forma marcante, enquanto um aumento mais evidente aparece em intensidades de 70 a 80 %  $VO_2$  max, com um desproporcional aumento quando a intensidade é de 100 %  $VO_2$  max (SCHLICHT *et al.*, 1990; KATZ *et al.*, 1986). Além da concentração plasmática de amônia se apresentar elevada em decorrência do exercício, alguns autores demonstraram que a ingestão de ACR pode provocar o aumento deste metabólito (MacLEAN e GRAHAM, 1993; MacLEAN, GRAHAM e SALTIN, 1994; VAN HALL *et al.*, 1995; MITTLEMAN, RICCI e BAILEY, 1998), sendo também relatada uma síntese elevada de amônia plasmática com a associação da suplementação de ACR com o exercício físico intenso e prolongado (OKAMURA *et al.*, 1987; MacLEAN e GRAHAM, 1993; MacLEAN, GRAHAM e SALTIN, 1994; CALDERS, 1999; CALDERS *et al.*, 1997).

Segundo BANISTER *et al.* (1985) e BIANCHI *et al.* (1997), a hiperamonemia indica menor ressíntese de ATP com aumento da atividade do

ciclo purina nucleotídeo, que está relacionado com a fadiga periférica. Outro ponto relevante descrito por WAGENMAKERS *et al.* (1998) e JACKMAN *et al.* (1998) seria a desaminação dos ACR e conseqüente oxidação dos seus esqueletos de carbono para síntese de ATP, por decorrência da depleção dos estoques de glicogênio intramuscular e hepático.

Conforme as considerações descritas anteriormente, observou-se que os resultados deste trabalho foram similares a outros estudos (SAHLIN, 1992; MITTLEMAN, RICCI e BAILEY, 1998), uma vez que a concentração de amônia apresentou elevação significativa em decorrência não só do exercício mas também da suplementação com ACR. No entanto, o aumento da concentração de amônia na condição de exaustão e na suplementação com 100 % de ACR para a condição de 1 hora pode ter sido tóxica, o que influenciou negativamente o desempenho. Esse fato possivelmente está associado à maior quantidade de ACR consumida juntamente com a intensidade de exercício imposta aos animais.

Assim sendo, o aumento acentuado da concentração plasmática de amônia imediatamente antes do processo de fadiga está relacionado possivelmente ao aumento da desaminação do AMP intramuscular decorrente do déficit de energia, oxidação dos ACR, depleção dos estoques de glicogênio e da redução das concentrações de piruvato e intermediários do ciclo de Krebs.

Com relação às concentrações de lactato sanguíneo no presente estudo, não foi observada influência da suplementação, já que não ocorreram diferenças estatisticamente significantes entre as dietas. Esses resultados encontram-se de acordo com os resultados de FINOTTI *et al.* (1998), que demonstraram que a suplementação com ACR não aumentou de forma significativa a atividade da enzima alanina aminotransferase que levaria ao deslocamento do piruvato para a formação de alanina e conseqüente diminuição do lactato.

Alguns estudos mostram que exercícios de intensidade moderada causam apenas ligeiro aumento das concentrações de lactato, bem como pequena redução das concentrações plasmáticas de bicarbonato. Por outro lado, exercícios de alta intensidade causam acentuada redução no pH (SHARP

*et al.*, 1986) associada à elevação das concentrações de lactato e íons hidrogênio, este último apontado como a principal causa da redução do desempenho físico.

Os grupos submetidos ao protocolo de exaustão apresentaram um aumento significativo de lactato de 55 % (média) em relação aos grupos com 1 hora de natação. O maior acúmulo de lactato nesses grupos indica que a demanda energética para esta atividade é principalmente suprida pela via glicolítica (HOLLOSZY, 1998), que tem como produto final o piruvato. A síntese de lactato está associada com a redução proporcional do NADH<sub>2</sub> em NAD que pode ocorrer também pela oxidação mitocondrial. (KATZ e SAHLIN, 1990). Aproximadamente 85% do H<sup>+</sup> livre gerado durante o exercício intenso que induz à acidose é proveniente do ácido láctico (SAHLIN, 1986). Portanto, quando a atividade glicolítica e subsequente síntese de H<sup>+</sup> são muito altas, ocorre diminuição do pH intracelular (METZGER e FITTS, 1987). Essa diminuição do pH intramuscular pode ser em grande parte associada à inibição da via glicolítica, por meio da inibição da atividade da enzima fosfofrutoquinase (PFK), e a subsequente interrupção do suprimento de energia nessa via.

No presente estudo observou-se que as concentrações de glicogênio hepático e muscular apresentaram redução significativa nos animais submetidos à exaustão, quando comparados aos da condição de 1 hora.

As concentrações hepáticas de glicogênio apresentaram valores significativamente maiores no grupo submetido a condição de 1 hora de natação com suplementação de 100 % de ACR em relação ao seus respectivos grupos controle e 50 % de ACR. Sendo assim, os resultados apresentados pelos grupos que nadaram por 1 hora sugerem que a suplementação de 100% de ACR foi eficiente para poupar glicogênio hepático na primeira hora de exercício.

De acordo com os resultados referentes à concentração de glicogênio do músculo gastrocnêmio, verificou-se que o grupo da condição 1 hora com dieta suplementada com 100 % de ACR apresentou aumento significativo em relação ao grupo que recebeu dieta controle, mostrando dessa forma a eficiência da suplementação. Por outro lado, o grupo que foi suplementado com

50 % de ACR apresentou concentrações intermediárias, não diferindo de nenhum dos dois outros grupos. As concentrações de glicogênio desse tecido não apresentaram diferenças estatísticas quando a condição foi o protocolo de exaustão.

Esses resultados estão de acordo com o estudo de SHIMOMURA *et al.*, 2000, que observaram uma menor utilização dos estoques de glicogênio hepático e muscular (gastrocnêmio) com a suplementação crônica de ACR via ração em exercícios agudos por tempo determinado (30 minutos de esteira). Essa preservação de glicogênio, segundo SHIMOMURA *et al.* (2000), ocorreu pela maior atividade do complexo enzimático que degrada os ACR.

As concentrações de glicogênio do músculo sóleo não apresentaram diferenças estatísticas entre as suplementações, apresentando diminuição significativa somente nas condições de exercício (1 hora e exaustão), como já citado anteriormente.

Quando a depleção de glicogênio ocorre durante o exercício prolongado, a diminuição da concentração de piruvato muscular não somente limita a contribuição parcial da reação catalisada pela enzima alanina aminotransferase (AAT) para a anaplerose do ciclo de Krebs, mas também a capacidade da enzima piruvato carboxilase, que fornece oxaloacetato a partir do piruvato oriundo da glicose sangüínea ou do glicogênio muscular. O exercício prolongado até a exaustão provoca a diminuição do conteúdo de glicogênio, diminuição dos intermediários do ciclo de Krebs e o conseqüente aumento da oxidação de ACR (WAGENMAKERS, 1998). Numerosos estudos têm demonstrado que o catabolismo de ACR, especialmente leucina, ocorre na fibra muscular em processo de contração durante o exercício prolongado (TIPTON e WOLFE, 2001). A primeira reação do catabolismo consiste de uma transaminação reversível catalisada pela enzima aminotransferase de aminoácido de cadeia ramificada (ATACR), sendo a segunda etapa uma descarboxilação oxidativa irreversível dos  $\alpha$ -cetoácidos de cadeia ramificada catalisada pelo complexo enzimático desidrogenase de  $\alpha$ -cetoácido de cadeia ramificada ( $D\alpha$ CCR), tendo como resultado final um intermediário do ciclo de Krebs (succinil CoA ) ou Acetil CoA, que pode, após se condensar com o

---

oxalacetato, gerar citrato, e posteriormente ser oxidado no ciclo de Krebs. Este fato é evidenciado pelo aumento da liberação de ACR pelo fígado, que são captados pelo músculo esquelético. Na fibra muscular, os ACR são consumidos, gerando intermediários do ciclo de Krebs e Acetil CoA, os quais podem fornecer seu grupo amino ao piruvato, convertendo-o em alanina. Este processo de síntese de alanina é predominante em exercícios intensos (PASQUALE, 1997) no entanto em exercícios moderados esses intermediários podem formar glutamina.

SHIMOMURA *et al.* (2000) estudaram o efeito da dieta suplementada com ACR no catabolismo dos ACR e no metabolismo de glicogênio em ratos. Foi verificado aumento da concentração plasmática de ACR e da atividade hepática do complexo enzimático desidrogenase de  $\alpha$ -cetoácido de cadeia ramificada, enzima limitante da taxa do catabolismo de ACR, sugerindo que a dieta com ACR possivelmente promova o aumento do catabolismo dos ACR. Esse autores verificaram que entre os grupos em repouso não houve diferença significativa entre as dietas quanto ao conteúdo de glicogênio hepático e muscular (gastrocnêmio). Entretanto, nos ratos submetidos à exaustão, essas concentrações foram de 2 a 4 vezes maiores nos ratos que receberam a dieta suplementada, em relação ao grupo controle. Além disso, a atividade do complexo enzimático piruvato desidrogenase diminuiu no grupo suplementado em relação ao controle. Os autores concluíram que a dieta suplementada com ACR é capaz de poupar os estoques de glicogênio no fígado e no músculo esquelético durante o exercício, e que a redução da atividade do complexo piruvato desidrogenase nesses tecidos está envolvida nestes mecanismos.

A manutenção da demanda energética durante o exercício de longa duração é realizada predominantemente por mecanismos oxidativos, com elevado consumo de AGL. No entanto, a produção de energia através desta via é dependente, em parte, da contínua conversão de glicogênio em oxaloacetato. A condensação de quantidades proporcionais de oxaloacetato e acetil-CoA em citrato, regulada pela enzima citrato sintase, inicia o ciclo de Krebs. Essa reação controla diretamente a oxidação do acetil-CoA derivado tanto do piruvato como dos AGL (LANCHA Jr. *et al.*, 1994). A diminuição da

concentração hepática e muscular de glicogênio, possíveis de ocorrer durante o exercício prolongado, pode limitar a continuidade do esforço, constituindo-se em causa da fadiga (KARLSSON e SALTIN, 1971).

Durante o exercício prolongado, os ACR são captados pelo músculo esquelético e oxidados para fins energéticos (WAGENMAKERS *et al.*, 1991; DOHM *et al.*, 1981) ocorrendo a diminuição dos mesmos no plasma (PARRY-BILLINGS *et al.*, 1990). O triptofano é o único aminoácido que circula ligado à albumina no plasma e a hipótese da fadiga central sugere que o exercício prolongado promove um aumento da concentração dos ácidos graxos livres (AGL) plasmáticos, o que pode ocasionar o deslocamento do triptofano da albumina e o conseqüente aumento da concentração de TRP<sub>L</sub> no plasma, o que elevaria a razão TRP<sub>L</sub>/ACR plasmática. Por conseqüência, haveria o aumento da síntese do neurotransmissor 5-HT no SMC, sendo que este composto é associado com a fadiga durante exercício prolongado (BLOMSTRAND *et al.*, 1988; BAILEY *et al.*, 1992, 1993; DAVIS, 1995; NEWSHOLME e BLOMSTRAND, 1996; DAVIS *et al.*, 2000). Como o TRP<sub>L</sub> e os ACR utilizam o mesmo mecanismo transportador para atravessar a barreira hemato-encefálica, tem sido proposto que a razão TRP<sub>L</sub>/ACR seja importante na determinação da taxa da síntese de 5-HT, associada ao desempenho físico (WURTMAN e FERNSTROM, 1975; ANDERSON *et al.*, 1990; GRAHAN e MACLEAN, 1992; WAGENMAKERS *et al.*, 1995; CUNLIFFE *et al.*, 1997).

Com o intuito de alterar a disponibilidade do triptofano para o cérebro, diversas pesquisas têm sido empregadas para retardar a fadiga durante exercício prolongado utilizando suplementos de ACR (BLOMSTRAND *et al.*, 1991; PERTRUZZELO *et al.*, 1992; HEFLER *et al.*, 1995; VAN HALL *et al.*, 1995, 1998; CALDERS, 1999; ROSSI, 2001). Entretanto, os resultados têm sido controversos, provavelmente devido aos diferentes procedimentos metodológicos, como: diferenças na composição e na quantidade dos suplementos, tempo de oferta, via de administração, assim como o tipo e intensidade de exercício utilizado.

CHAULOFF *et al.* (1986) observaram que as concentrações plasmáticas e cerebrais de triptofano e 5-HT aumentaram durante exercício em ratos, o que

pode estar relacionado com a fadiga central. OKAMURA *et al.* (1987) verificaram o aumento da concentração de triptofano plasmático em ratos submetidos à exaustão em esteira e DAVIS *et al.* (1992) também relataram aumento do TRP<sub>L</sub> e da razão TRP<sub>L</sub>/ACR.

BLOMSTRAND *et al.* (1988) verificaram as concentrações plasmáticas de ácidos graxos livres, ACR e TRP total e livre, antes e após uma maratona. Foi observado que a concentração de AGL aumentou, a de ACR diminuiu e a de TRP<sub>L</sub> aumentou. Segundo os autores, o aumento do TRP<sub>L</sub> ocorreu provavelmente pela elevação dos AGL em decorrência do exercício, juntamente com a diminuição das concentrações dos ACR. Tal fato proporcionou um aumento na razão TRP<sub>L</sub>/ACR, que levaria a um aumento na passagem do TRP<sub>L</sub> pela barreira hemato-encefálica, e então a uma elevação da síntese de 5-HT. Assim, os autores concluíram que essa elevação da 5-HT em áreas específicas do cérebro poderia ser responsável pelo desenvolvimento da fadiga física e/ou mental durante exercício prolongado.

As concentrações plasmáticas de AGL neste experimento não apresentaram diferenças significativas em relação à condição de exercício (1 hora e exaustão). Ao observar-se a suplementação, não encontrou-se diferenças estatísticas significantes, exceto para os animais que nadaram por 1 hora e consumiram dieta suplementada com 50 % de ACR em relação ao grupo suplementado com 100 % de ACR na mesma condição de exercício (1 hora). Este resultado poderia ser explicado pela intensidade de exercício, pois atividades de intensas a moderadas têm como principal substrato de oxidação os carboidratos (HOLLOSZY *et al.*, 1998) resultando em uma redução na captação e oxidação dos AGL.

Com relação às concentrações de TRP total, foi observado aumento significativo com a suplementação, sendo essa resposta similar tanto para a condição 1 hora como para a condição exaustão. Esse resultado demonstra que a suplementação com ACR foi eficiente para aumentar a concentração de TRP total nas duas condições de exercício. Por outro lado, a condição exercício não alterou as concentrações de TRP total, conforme observado por BLOMSTRAND *et al.* (1988).

---

Em relação aos resultados de 5-HT do hipotálamo não foram encontradas diferenças estatísticas significantes, com exceção do grupo que foi suplementado com 100 % de ACR na condição de exaustão em relação ao seu respectivo grupo controle. Esses resultados sugerem que a suplementação com 100 % de ACR proporcionou um aumento da concentração de 5-HT cerebral e, assim, seria possível observar um maior desenvolvimento de fadiga central nesse grupo. Entretanto, não houve diferenças significativas no tempo de resistência ao esforço dos grupos suplementados em relação ao controle. Então, pode-se constatar que tais resultados, para essa intensidade de exercício, divergem das propostas descritas para a hipótese da fadiga central, fato esse que pode ser justificado pela hiperamonemia ocorrida nos grupos que se exercitaram até a exaustão. No entanto, pode-se sugerir que existe associação entre exercício prolongado e extenuante e a maior síntese de 5-HT, independente das suplementações.

---

## 7. CONCLUSÕES

De acordo com os resultados observados pode-se concluir que:

- ✓ As duas suplementações crônicas de ACR não foram eficientes para melhorar o rendimento dos animais quando submetidos ao teste de tolerância ao esforço próximo ao limiar anaeróbio metabólico.
  
- ✓ Os resultados obtidos a partir do teste de tolerância ao esforço em intensidade próxima ao limiar anaeróbio metabólico indicaram a predominância de parâmetros periféricos indicativos de fadiga como: diminuição da concentração de glicose plasmática, maior acúmulo de lactato, depleção do glicogênio muscular e hepático e hiperamonemia. Esses parâmetros podem ter papel relevante no desenvolvimento da fadiga, já que a elevada concentração de 5-HT observada nos grupos suplementados não sustenta a hipótese da fadiga central.

---

## 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS\*

ALLEN, D.G.; WESTERBLAD, H.; LEE, J.A.; LÄNNERGREN, J. Role of excitation-contraction coupling in muscle fatigue. **Sports Med.** v.13, p.116-126, 1992.

ANDERSON, S.A.; TEWS, J.K.; HARPER, A.E. Dietary branched-chain amino acids and protein selection by rats. **J. Nutr.** v.120, p.52-63, 1990.

APPELL, H.J.; SOARES, J.M.C.; DUARTE, J.A.R. Exercise, muscle damage and fatigue. **Sports Med.** v.13, p.108-115, 1992.

ARDAWI, M.S.M. Skeletal muscle glutamine production in thermally injured rats. **Clin. Sci.** v.74, p.165-172, 1988.

ARMSTRONG, R.B.; WARREN, G.L.; ; WARREN, J.A. Mechanisms of exercise-induced muscle fibre injury. **Sports Med.** v.12, p.184-207, 1991.

BAILEY, S.P.; DAVIS, J.M.; AHLBORN, E.N. Effect of increased brain serotonergic activity on endurance performance in the rat. **Acta Physiol. Scand.** v. 145, p.75-76, 1992.

BAILEY, S.P.; DAVIS, J.M.; AHLBORN, E.N. Serotonergic agonists and antagonists affect endurance performance in the rat. **Int. J. Sports Med.** v.14, p.330-333, 1993.

---

\* De acordo com:

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 6023**: informação e documentação: referências: elaboração. Rio de Janeiro, 2002.

---

BANISTER, E.W.; CAMERON, B.J.C. Exercise-induced hyperammonemia: peripheral and central effects. **Int. J. Sports Med.** v.11, p.S129-S142, 1990.

BANISTER, E.W.; RAJENDRA, W.; MUTCH, B.J.C. Ammonia as an indicator of exercise stress: implications of recent findings to sports medicine. **Sports Med.** v.2, p.34-46, 1985.

BERGMEYER, H.U. Determination with glucose oxidase and peroxidase. In: *Methods of Enzymatic Analysis*, New York, ed. Bergmeyer, H.U., Academic Press, 1974, p. 1205-1212.

BHAGAT, B.; WHEELER, N. Effect of amphetamine on the swimming endurance of rats. **Neuropharmacology.** v.12, p.711-713, 1973.

BIANCHI, G.P.; GROSSI, G.; BARGOSSO, A.M. May peripheral and central fatigue be correlated? Can we monitor them by means of clinical laboratory tools? **J. Sports Med. Phys. Fitness.** v.37, p.194-199, 1997.

BISHOP, N.C.; BLANNIN, A.K.; WALSH, N.P.; ROBSON, P.J.; GLEESON, M. Nutritional aspects of immunosuppression in athletes. **Sports Med.** v.28, p.151-176, 1999.

BLOMSTRAND, E. Amino acids and central fatigue. **Amino Acids.** v.20, p.25-34, 2001.

BLOMSTRAND, E.; CELSING, F.; NEWSHOLME, E. A. Changes in plasma concentrations of aromatic and branched-chain amino acids during sustained exercise in man and their possible role in fatigue. **Acta Physiologica Scandinavica.** v.133.

---

BLOMSTRAND, E.; ANDERSSON, S.; HASSMÉN, P.; EKBLÖM, B.; NEWSHOLME, E.A. Effect of branched-chain amino acid and carbohydrate supplementation on the exercise-induced change in plasma muscle concentration of amino acids in human subjects. **Acta Physiol. Scand.** v.153, p. 87-96, 1995.

BLOMSTRAND, E.; HASSMÉN, P.; EKBLÖM, B.; NEWSHOLME, E. Administration of branched-amino acids during sustained exercise: effects on performance and on plasma concentrations of some amino acids. **Eur. J. Appl. Physiol.** v. 63, p.83-88, 1991.

BLOMSTRAND, E.; HASSMÉN, P.; NEWSHOLME, E.A. Effect of branched-chain amino acid supplementation on mental performance. **Acta Physiol. Scand.** v.143, p. 225-226, 1991.

BLOMSTRAND, E.; NEWSHOLME, E. A. Effect of branched-chain supplementation on the exercise-induced change in aromatic amino acid concentration in human muscle. **Acta Physiol. Scand.** v.146, p.293-298, 1992.

BLOMSTRAND, E.; PERRET, D. PARRY-BILLINGS, M. Effect of sustained exercise on plasma amino acid concentrations and on 5-hydroxytryptamine metabolism in six different brain regions in the rat. **Acta Physiol. Scand.** v.136, p. 473-481, 1989.

BLOMSTRAND, E.; SONJA, E.K.; NEWSHOLME, E.A. Influence of ingesting a solution of branched-chain amino acids on plasma and muscle concentrations of amino acids during prolonged submaximal exercise. **Nutrition.** v.12, p.7-8, 1996.

BLOXAM, D.L.; WARREN, W.H. Error in the determination of tryptophan by the Method of Denckla and Dewey. A revised procedure. **Anal. Biochem.** v.60, p621-625, 1974.

---

BLUNDELL, J.E. Serotonin and the biology of feeding. **Am. J. Clin. Nutr.** v.55, p.S155-S159, 1992.

BOOTH, F.W.; NICHOLSON, W.F.; WATSON, P.A. Influence of muscle use on protein synthesis and degradation. **Sports Sci. Rev.** v.10, p.27-48, 1982.

BORBA-MURAD, G.R.; SOUZA, H.M.; LOPES, G.; FERREIRA, E.B.; DAMBROSO, D.; BAZOTTE, R.B. Changes in glicemia induced by exercise in rats: contribution of hepatic glycogenolysis and gluconeogenesis. **Res. Commun. Mol. Pathol. Pharmacol.** v.102, p.113-123, 1998.

BOWER, J.A. Statistics for food science V: ANOVA and Multiple Comparisons **Nutr. and Food Sci.** v.1, p.41-48, 1998.

BOWER, J.A. Statistics for food science V: Non-Parametric ANOVA **Nutr and Food Sci.** v.2, p.102-108, 1998.

BROOKS, G. A. Amino acid and protein metabolism during exercise and recovery. **Med. Sci. Sports Exerc.** v.19, p.S150-S156, 1987.

CALDERS, P.; MATTHYS, D.; DERAIVE, W.; PANNIER, J.-L. Effect of branched-chain (BCAA), glucose, and glucose plus BCAA on endurance performance in rats. **Med. Sci. Sports Exerc.** v.31, n.1, p.583-587, 1999.

CALDERS, P.; PANNIER, J.P.; MATTHYS, D.M., LACROIX, E.M. Pre-exercise branched-chain amino acid administration increases endurance performance in rats. **Med. Sci. Sports Exerc.** v.29, p.1182-1186, 1997.

CALLES-ESCANDON, J.; HORTON, E.S. The thermogenic role of exercise in the treatment of morbid obesity: a critical evaluation. **Am. J. Clin. Nutr.** v.55, p.S533-S537, 1992.

---

CECCHI, H.M. Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos. Campinas: UNICAMP, 1999. p.37-77, 87-96.

CHAOULOFF, F. Effects of acute physical exercise on central serotonergic systems. **Med. Sci. Sports Exerc.** v. 29, p.58-62, 1997.

CHAOULOFF, F. Physical exercise and brain monoamines: a review. **Acta Physiol. Scand.** v.137, p.1-13, 1989.

CHAOULOFF, F.; ELGHOZY, J.L.; GUEZENNEC, Y.; LAUDE, D. Effects of conditioned running on plasma, liver and brain tryptophan and on brain 5-hydroxytryptamine metabolism of the rat. **Br. J. Pharmac.** v.86, p.33-41, 1985.

CHAOULOFF, F.; LAUDE, D.; ELGHOZY, J.L. Physical exercise: evidence for differential consequences of tryptophan on 5-HT synthesis and metabolism in central serotonergic cell bodies and terminals. **J. Neural Transm.** v.78, p.121-130, 1989.

CHAOULOFF, F.; LAUDE, D.; GUEZENNEC, Y.; ELGHOZY, J.L. Motor activity increases tryptophan, 5-hydroxyindoleacetic acid, and homovanillic acid in ventricular cerebrospinal fluid of the conscious rat. **J. Neurochem.** v. 46, p.1313-1316, 1986.

CLARKSON, P.M.; THOMPSON, H.S. Drugs and sports: research findings and limitations. **Sports Med.** v.24, p.366:384, 1997.

COSTA, A.S.; SAWADA, L.A.; MARQUEZI, M.L.; LANCHETA Jr., A.H. Exercício físico, suplementação de aminoácidos e captação de glicose. **Rev. Bras. de Nutr. Clínica.** v.14, n.1, 0.40-50, 1999.

COSTILL, D.L.; HARGREAVES, M. Carbohydrate nutrition and fatigue. **Sports Med.** v.13, p.86-92, 1992.

COYLE, E.F. Carbohydrate supplementation during exercise. **J. Nutr.** v.122, p.788-795, 1992.

CUNLIFFE, A.; OBEID, O.A.; POWELL-TUCK, J. A placebo controlled investigation of the effects of tryptophan or placebo on subjective and objective measures of fatigue. **Eur. J. Clin. Nutr.** v.52, p.425-430, 1998.

CUNLIFFE, A.; OBEID, O.A.; POWELL-TUCK, J. Post-prandial changes in measures of fatigue: effect of a mixed or a pure carbohydrate or pure fat meal. **Eur. J. Clin. Nutr.** v.51, p.831-838, 1997.

DACAR, M. Efeito da suplementação aguda de triacilglicerol de cadeia média (TCM) sobre o tempo de resistência ao esforço de ratos treinados em natação. São Paulo, 2000. [Dissertação de Mestrado – Escola de Educação Física e Esporte – USP].

DARLING, R.C.; JOHNSON, R.E.; PITTS, G.C.; CONSOLAZIO, F.C.; ROBINSON, P.F. Effect of variations in dietary protein on the physical well being of men doing manual work. **J. Nutr.** V.28, p.273-281, 1944.

DAVIS, J.M. Carbohydrates, branched-chain amino acids, and endurance: the central fatigue hypothesis. **Int. J. Sport Nutr.** v.5, p.S29-S38, 1995b.

DAVIS, J.M. Central and peripheral factors in fatigue. **J. Sports Sci.** v.13, p.S49:S53, 1995a.

DAVIS, J.M.; ALDERSON, N.L.; WELSH, R.S. Serotonin and central nervous system fatigue: nutritional considerations. **Am. J. Clin. Nutr.** v. 72, p. S563-S568, 2000.

DAVIS, J.M.; BAILEY, S.P. Possible mechanisms of central nervous system fatigue during exercise. **Med. Sci. Sports Exerc.** v.29, p.45-57, 1997.

---

DAVIS, J.M.; BAILEY, S.P.; WOODS, J.A.; GALIANO, F.J.; HAMILTON, M.T.; BARTOLI, W.P. Effects of carbohydrate feedings on plasma free tryptophan and branched-chain amino acids during prolonged cycling. **Eur. J. Appl. Physiol.** v.65, n.6, p.213-9, 1992.

DAVIS, J.M.; WELSH, R.S.; DE VOLVE, K.L.; ALDERSON, N.A. Effects of branched-chain amino acids and carbohydrate in fatigue during intermittent, high-intensity running. **Int. J. Sports. Med.** v.20, p.309-314, 1999.

DENCKLA, W.D.; DEWEY, H.K. The determination of tryptophan in plasma, liver and urine. **J. Lab. & Clin. Med.** v.69, p. 160-169, 1967.

DISHMAN, R.K. Brain monoamines, exercise and behavioral stress: animal models. **Med. Sci. Sports Exerc.** v.29. p.63-74, 1997.

DOHM, G. L. Protein as a fuel for endurance exercise. **Exerc. Sports Rev.** v.14, p.43-173, 1986.

DOHM, G.L.; BEECHER, G.R.; WARREN, R.Q.; WILLIAMS, R.T. Influence of exercise on free amino acid concentrations in rat tissues. **J. Appl. Physiol.** v.50, p.41-44, 1981.

DOHM, G.L.; KASPEREK, G.J.; TAPSCOTT, E.B.; BARAKAT, H.A. Protein metabolism during endurance exercise. **Fed. Proc.** v.44, p.348-352, 1985.

ERIKSSON, L.S.; BROBERG, S.; BJORKMAN, O.; WAHREN, J. Ammonia metabolism during exercise in man. **Clin. Physiol.** v.5, p.325-336, 1985.

FALHOLT, K.; LUND, B.; FALHOLT, T.W. An easy calorimetric micromethod for routine determination of free fatty acids in plasma. **Clin. Chim. Acta.** v.45, p.105-111, 1973.

FELIG & WAHREN. J. Amino acid metabolism in exercising man. **J. Clin. Invest.** v. 50, p.2703-2714, 1971.

FERNSTROM, J.D. Dietary amino acids and brain function. **J. Am. Diet. Assoc.** v.94, p.71-77, 1994.

FINOTTI, R.L. Efeito da suplementação de aminoácido de cadeia ramificada, sobre o desempenho em exercícios supra limiar anaeróbio. Rio Claro- SP. 1988 [Dissertação de Mestrado- Instituto de Biociências- UNESP]


GALIANO, F.J., DAVIS, J.M.; BAILEY, S.P.; WOODS, J.A.; HAMILTON, M.; BARTOLI, W.P. Physiological, endocrine and performance effects of adding branched chain amino acids to a 6% carbohydrate-electrolyte beverage during prolonged cycling (Abstract) **Med. Sci. Sports Exerc.** v. 23, p.S14, 1991.

GANDEVIA, S.C. Some central and peripheral factors affecting human motoneural output in neuromuscular fatigue. **Sports Med.** v.13, p.93-98, 1992.

GOMEZ-MERINO, D.; BEQUET, F.; BETHELOT, M.; RIVERAIN, S.; CHENNAOUI, M.; GUEZENNEC, C.Y. Evidence that the branched-chain amino acid L-valine prevents exercise-induced release of 5-HT in rat hippocampus. **Int J Sports Med.** v. 5, p.317-322, 2001.

GOODMAN, M.N. & RUDERMAN, N.B. Influence of muscle use on amino acid metabolism. **Exerc. Sports Rev.** v.10, p.1-26, 1982.

GRAHAM, T.E.; McLEAN, D.A. Ammonia and amino acid metabolism in human skeletal muscle during exercise. **Can. J. Physiol. Pharmacol.** v.70, p.132-141, 1992.

 BIBLIOTECA  
Faculdade de Ciências Farmacêuticas  
Universidade de São Paulo

GUEZENNEC, C.Y.; ABDELMALKI, B.; SERRURIER, B.; MERINO, D.; BIGARD, X.; BERTHELOT, M.; PIERARD, C.; PERES, M. Effects of prolonged exercise on brain ammonia and amino acids. **Int.J. Sports Med.** v. 19, p.323-327, 1998.

HARGREAVES, M. Carbohydrates and exercise performance. **Nutr Rev.** v.54, p.S136-S139, 1996.

HARGREAVES, M. **Exercise Metabolism.** Melbourne. Human Kinetics, 1995, 263p.

HASSID, W.Z. & ABRAHAM, S. Chemical procedures for analysis of polysaccharides. **Methods. Enzymol.** v.3, p.34-50, 1957.

HEFLER, S.K; WIDEMAN, L.; GAESSER, G.A.; WELTMAN, A. Branched-chain amino acid supplementation improves endurance performance in competitive cyclists. **Med. Sci. Sports Exerc.** v. 27, p. S5, 1995.

HÖLLGE, J.; KUNKEL, M.; ZIEMANN, U.; TERGAU, F.; GEESE, R.; REIMERS, C.D. Central fatigue in sports and daily exercises: a magnetic stimulation study. **Int. J. Sports Med.** v.18, p.614-617, 1997.

HOLLOSZY, J.O.; KOHRT, M.; HANSEN, P.A. The regulation of carbohydrate and fat metabolism during and after exercise. **Front. in Biosci.** v.3, p.1011-1027, 1998.

IBANEZ, J.; PULLINEN, T.; GOROSTIAGA, E.; POSTIGO, A.; MERO, A. Blood lactate and ammonia in short-term anaerobic work following induced alkalosis. **J. Sports Med Physic. Fitness.** v.35, p.187-193, 1995.

JAKEMAN, P.M. Amino acid metabolism, branched-chain amino acid feeding and brain monoamine function. **Proc. Nutr. Soc.** v.57, p.37-41, 1998.

KARLSSON, J.; SALTIN, B. Diet, muscle glycogen and endurance performance. **J. Appl. Physiol.** v.31, p.203-206, 1971.

KATZ, A.; BROBERG, S.; SAHLIN, K.; WAHREN, J. Muscle ammonia and amino acid metabolism during exercise in man. **Clin. Physiol.** v.6, p.365-379, 1986.

KATZ, A.; SAHLIN, K. Role of oxygen in regulation of glycolysis and lactate production in human skeletal muscle. **Exer. Sports Sci. Rev.** v.18, p.1- 28, 1990.

KOYAMA, K.; KAYA, M.; TSUJITA, J.; HORI, S. Effects of decrease plasma glutamine concentrations on peripheral lymphocyte proliferation in rats. **Eur. J. Appl. Physiol.** v.77, p.25-31, 1998.

KREIDER, R.B.; MIRIEL,V.; BERTUN, E. Amino acid supplementation and exercise performance: analysis of the proposed ergogenic value. **Sports Med.** v.16, p.190-209, 1993.

LANCHA Jr, A.H. Efeito da suplementação de aminoácidos (aspartato e asparagina) sobre o transporte de glicose em músculo esquelético de ratos. São Paulo, 1997. [Tese (Livre Docência)- Escola de Educação Física e Esporte- USP].

LANCHA Jr, A.H. Papel da geração de oxaloacetato no exercício físico moderado em ratos – conseqüências da suplementação de aspartato, asparagina e carnitina. São Paulo, 1993. [Tese de Doutorado - Faculdade de Ciências Farmacêuticas - USP].

LANCHA Jr, A.H. Resistência ao esforço físico: efeito da suplementação com asparagina, aspartato e carnitina. São Paulo, 1991. [Dissertação de Mestrado - Faculdade de Ciências Farmacêuticas - USP].

LANCHA Jr, A.H.; RECCO, M.B.; ABDALLA, D.S.P.; CURI, R. Effect of aspartate, asparagine and carnitine supplementation in the diet on metabolism of skeletal muscle during a moderate exercise. *Phys. Behav.* v.57, n.2, p.367-371, 1995.

LANCHA Jr, A.H.; RECCO, M.B.; ABDALLA, D.S.P.; CURI, R. Pyruvate carboxilase activity in the heart and skeletal muscles of the rat. Evidence for a stimulating effect of exercise. *Int. J. Biochem. Mol. Biol.* v. 32, p.483-189, 1994.

LEHMANN, M.; FOSTER, C.; DICKHUTH, H.H.; GASTMANN, U. Autonomic imbalance hypothesis and overtraining syndrome. *Med. Sci. Sports Exerc.* v.30, p.1140-1145, 1998.

LEHMANN, M.; FOSTER, C.; KEUL, J. Overtraining in endurance athletes: a brief review. *Med. Sci. Sports Exerc.* v.25, p.854-862, 1993.

LEHNINGER, A.L. *Princípios da bioquímica*. 5<sup>a</sup>.ed. São Paulo: Sarvier, 1989. 725p.

LYONS, P.M. & TRUSWELL, A.S. Serotonin precursor influenced by type of carbohydrate meal in healthy adults. *Am. J. Clin. Nutr.* v.47, p.433-439, 1988.

MACKINNON, L.T.; HOOPER, S.L. Plasma glutamine and upper respiratory tract infection during intensified training in swimmers. *Med. Sci. Sports Exerc.* v.28, p.285-290, 1996.

MARQUEZI, M.L. Efeito da suplementação de aspartato e asparagina sobre os determinantes da fadiga em ratos submetidos a exercício agudo de natação de intensidade supra-limiar anaeróbio metabólico até a exaustão. São Paulo, 1999. [Dissertação de Mestrado – Escola de Educação Física e Esporte – USP].

MAUGHAN, R.; GLEESON, M.; GREENHAFF, P. **Bioquímica do Exercício**. 1.ed. São Paulo: Manole, 2000. 240p.

MAYER, J. & BULLEN, B. Nutrition and athletic performance. **Physiol. Rev.** v.40, p.369-397, 1960.

McARDLE, W.D.; KATCH, F.I.; KATCH, V.L. **Fisiologia do exercício: energia, nutrição e desempenho humano**. 3ª. ed. Rio de Janeiro:Guanabara Koogan, 1992. 510p.

McKENNA Jr., J.R. Muscle contraction and fatigue: the role of adenosine 5'-diphosphate and inorganic phosphate. **Sports Med.** v. 23, p.187-305, 1997.

McLEAN, D.A. & GRAHAM, T.E. Branched-chain amino-acid supplementation augments plasma ammonia response during exercise in humans. **J. Appl. Physiol.** v. 74, p.2711-2717, 1993.

McLEAN, D.A.; GRAHAM, T.E.; SALTIN, B. Branched-chain amino-acid supplementation augments ammonia metabolism while attenuating protein breakdown during exercise. **Am. J. Physiol.** v.267, p.E1010-E1022, 1994.

McLESTER Jr; J.R. Muscle contraction and fatigue: the role of adenosine 5'-diphosphate and inorganic phosphate. **Sports Med.** v.23, p.287-305, 1997.

MEEUSEN, R.; De MEIRLEIR, K. Exercise and brain neurotransmission. **Sports Med.** v.20, p.160-188, 1995.

METZGER, J.; FITTS, R. Role of intracellular pH in muscle fatigue. **J. Appl. Physiol.** v. 62, p.1392-1397, 1987.

---

MITTLEMAN, K.D.; RICCI, M.R.; BAILEY, S.P. Branched-chain amino acids prolong exercise during heat stress in men and women. **Med. Sci. Sports Exerc.** v.30, p.83-91, 1998.

MUTCH, B.J.; BANISTER, E.W. Ammonia metabolism in exercise and fatigue: a review. **Med. Sci. Sports Exerc.** v.15, p.41-50, 1983.

NEWSHOLME, E.A. & BLOMSTRAND, E. The plasma level of some amino acids and physical and mental fatigue. **Experientia.** v.52, p.413-415, 1996.

NEWSHOLME, E.A.; ACWORTH, I.N.; BLOMSTRAND, E. Amino acids, brain neurotransmitters and a functional link between muscle and brain that is important in sustained exercise. In: **Advances in myochemistry.** London. John Libbey Eurotext, p.127-133, 1987.

NEWSHOLME, E.A.; LEECH, A.R.; **Biochemistry for the medical sciences.** 2.ed. New York: John Willey, 1988.

NEWSHOLME, E.A.; LEECH, T. DUESTER, G. **Keep on running: the science of running and performance.** New York: John Wiley, 1994.

OKAMURA, K.; MATSUBARA, F.; YOSHIOKA, N.; KIKUCHI, Y.; KOHRI, H. Exercise-induced changes in branched-chain amino acid / aromatic amino acid ratio in the rat brain and plasma. **Japan J. Pharmacol.** v.45, p.243-148, 1987. p 115- 121, 1988.

PARDRIDGE, W.M.; CHOI, T.B. Neutral amino acid transport at the human blood-brain barrier. **Fed. Proc.** v.45, p. 2073-2078, 1986.

PARRYS-BILLINGS, M.; BLOMSTRAND, E.; McANDREW, M.; NEWSHOLME, E.A. A communicational link between skeletal muscle, brain and cells of the immune system. **Int. J. Sports Med.** v.11, p.S122-S128, 1990.

---

PASQUALE, D.P. Amino acids and proteins for the athlete: the anabolic edge. **Boca Raton: CRC Press**, 1997. 257p. (Nutrition in exercise and sport).

PENSGAARD, A.M.; URSIN, H. Stress, control and coping in elite athletes. **Scand. J. Med. Sci. Sports**. v.8; p.183-189, 1998.

PERTRUZZELLO, S.J.; LANDERS, D.M.; PIE, J.; BLILIE, J. Effect of branched-chain amino acid supplements on exercise-related mood and performance. **Med. Sci, Sports Exerc** (Abstract). v. 24, p.2 ,1992.

RATLIFF, C.R. & HALL, F.F. Blood ammonia returns to the laboratory. **Laboratory Management**, August, p. 16, 1979.

REED, J.D. They hunger for success. **Sports Illustrated**. V.46, p.65-74, 1977.

REEVES, P.G.; NIELSEN, F.H.; FAHEY Jr; G.C. AIN-93 Purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing Committee on the Reformulation of the AIN-76A rodent diet. **J. Nutr.** v.123, p.1939-1951, 1993.

REGOUW, B.J.M.; CORNELISSEN, P.J.H.C.; HELDER, R.A.P.; SPIJKERS, J.B.F.; WEEBER, Y.M.M. Specific determination of free fatty acid in plasma. **Clin. Chim. Acta**. v.31, p.187-198, 1971.

RIBEIRO, E.B.; BETTIKER, R.L.; BOGDANOV, M.; WURTMAN, R.J. Effects of systemic nicotine on serotonin release in rat brain. **Brain Res**. v.621, p.311-318, 1993.

RIBEIRO, S.M.L. Relações entre proteína da dieta, atividade física e crescimento: estudo em ratos. São Paulo, 1995. [Dissertação de Mestrado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – USP].

---

ROBERTS, D.; SMITH, D.J. Biochemical aspects of peripheral muscle fatigue: a review. **Sports Med.** v.7, p.125-138, 1989.

ROBINSON, K.A.; SMITH, D.J. Pré-exposure to glucosamine induces insulin resistance of glucose transport and glycogen synthesis in isolated rat skeletal muscles. **Diabetes.** v. 42, p.1333-1346, 1993.

ROGERO, M.M. Efeitos do exercício e da suplementação com L-glutamina e L-alanil-L-glutamina sobre as concentrações de glutamina no plasma, músculo e fígado em ratos. São Paulo, 2002. [Dissertação de Mestrado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – USP].

ROSSI, L.; SILVA, R.C.; TIRAPEGUI, J. Avaliação nutricional de atletas de karatê. **Rev. Bras. Ativ. Fis. Saúde,** 2000.

ROSSI, L.; TIRAPEGUI, J. Aspectos atuais sobre exercício físico, fadiga e nutrição. **Rev. Paul Educ. Fis.** v.13, n.1, p.67-82, 1999.

ROSSI, L.M. Efeito da suplementação com aminoácidos de cadeia ramificada e sua relação com a fadiga periférica e central. São Paulo, 2001. [Dissertação de Mestrado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – USP].

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

SAHLIN, K.; BROBERG, S. Adenine nucleotide depletion in human muscle during exercise: casualty and significance of AMP deamination. **Int. J. Sports Med.** v.2, p.S62-S67, 1990.

SAHLIN, K.; KATZ, A.; BROBERG, S. Tricarboxylic acid cycle intermediates in human muscle during prolonged exercise. **Am. J. Physiol.** v.259, p.C834-C841, 1990.

---

SAHLTIN, B.; HENRIKSSON, J.; NYGAARD, E. Fiber types and metabolic potentials of skeletal muscles in sedentary man and endurance runners. **Annually New York Academy Sciences**. v.301, p.3-29, 1977.

SALTER, M.; KNOWLES, R.G.; POGSON, C.I. How does displacement of albumin-bound tryptophan cause sustained increases in the free tryptophan concentration in plasma and 5-hydroxytryptamine synthesis in brain? **Biochem. J.** v.262, p.365-368, 1989.

SARKISSIAN, C.F.; WURTMAN, R.J.; MORSE, A.N.; GLEASON, R. Effects of fluoxetine or D-fenfluramine on serotonin release from, and level in, rat frontal cortex. **Brain Res.** v.529, p.294-301, 1990.

SCHLICHT, W.; NARETZ, W.; WITT, D.; RIEKERT, H. Ammonia and lactate: differential information on monitoring training load in sprint events. **Int. J. Sports Med.** v.11, p.585-90, 1990.

SEENE, T.; ALEV, K.; PEHME, A. Effect of muscular activity on the turnover rate of actin and myosin heavy and light chains in different types of skeletal muscle: changes in the turnover rate of myosin and actin during and after single-bout physical activity. **Int. J. Sports Med.** v.7, p.287-290, 1986.

SEGURA, R. & VENTURA, J.L. Effect of l-tryptophan supplementation on exercise performance. **Int. J. Sports Med.** v.9, p.301-305, 1988.

SHARP, R.L.; COSTILL, D.L.; FINK, W.J.; KING, D.S. Effects of eight weeks of bicycle ergometer sprint training on human muscle buffer capacity. **Int. J. Sports Med.** v.7, p.13-17, 1986.

---

SHIMOMURA, Y.; MURAKAMI, T.; NAKAI, N.; NAGASAKI, M.; OBAYASHI, M.; LI, Z.; XU, M.; SATO, Y.; KATO, T.; SHIMOMURA, N.; FUJITSUKA, N.; TANAKA, K.; SATO, M. Supression of glycogen consumption during acute exercise by dietary branched-chain amino acids in rats. **J. Nutr. Sci. Vitamol**, v.46, p.71-77, 2000.

SMRIGA, M.; KAMEISHI, M.; TANAKA, T.; KONDOH, T.; TORII, K. preference for a solution of branched-chain amino acids plus glutamine and arginine correlates with free running activity in rats: involvement of serotonergic-dependent process of lateral hypothalamus. **Nutr. Neurosci.** v.3, p.189-199, 2002.

SOARES, J.; NAFFAH-MAZZACORATTI, M.G.; CAVALHEIRO, E.A. Increased serotonin levels in physically trained men. **Brazilian J. Med. Biol. Res.** v.27, p.1635-1638, 1994.

TIPTON, K.D.; WOLFE, R.R. Exercise, protein metabolism, and muscle growth. **Int. J. Sport Nutr. Exerc. Met.** v. 11, p.109-132, 2001.

VAN HALL, G.; RAAJMAKERS, J.S.H.; SARIS, W.H.M.; WAGENMAKERS, A.J.M. Ingestion of branched-chain amino acids and tryptophan during sustained exercise in man: failure to affect performance. **J. Physiol.** v. 486, p.789-794, 1995.

VAN ITALLIE, T.B.; SINISTERRA, L.; STARE, F.J. Nutrition and athletic performance. **J. Am. Med. Assoc.** v.162, p.1120-1126, 1956.

VERGER, P.H.; AYMARD, P.; CYNOBERT, L.; ANTON, G.; LUIGI, R. Effects of administration of branched-chain amino acids versus glucose during acute exercise in the rat. **Physiol. Behav.** v. 55, p.523-526, 1994.

---

VIEIRA, R.; HAEBISCH, H.; KOKUBUN, E.; HELL, N.S.; CURI, R. Swimming system for physical exercise of rats. **Arq. Biol. Technol.** v.31, p.387-394, 1988.

VIRU, A. Mobilization of structural proteins during exercise. **Sports Med.** v.4, p.95-128, 1987.

VON LIEBIG, J. Animal chemistry, or organic chemistry in its application to physiology. Appleton and Company, New York, NY. 1842.

WAGENMAKERS, A.J.M. Muscle amino acid metabolism at rest and during exercise: role in human physiology and metabolism. **Exerc. Sports Rev.** v.26, p.287-314, 1998.

WAGENMAKERS, A.J.M.; BECKERS, E.J.; BROUNS, F.; KUIPERS, H.; SOETERS, P.B.; VAN DER VUSSE, G.J.; SARIS, W.H.M. Carbohydrate supplementation, glycogen depletion, and amino acid metabolism during exercise. **Am. J. Physiol.** v.260, p.E883-E890, 1991.

WEICKER H., HAGELE, H. Comparison of alanine production after L-leucine and AMP deamination in enzymatic model and in muscle specimens. **Int.J. Sports Med.** v.11, p.114-119, 1990.

WELLMAN, P.J. Overview of adrenergic anorectic agents. **Am. J. Clin. Nutr.** v.55, p.S193-S198, 1992.

WELTZIN, T.E.; FERNSTROM, J.D.; McCONAHA, C.; KAYE, W.H. Acute tryptophan depletion in bulimia: effects on large neutral amino acids. **Biol. Psychiatry.** v.15, p.388-397, 1994.

WURTMAN, R.J.; FERNSTROM, J.D. Control of brain monoamine synthesis by diet and plasma amino acids. **Am. J. Clin. Nutr.** v.28, p.638-647, 1975.

YAMAMOTO, T.; CASTELL, L.M.; BOTELLA, J.; POWELL, H.; HALL, G.M.; YOUNG, A.; NEWSHOLME, E.A. Changes in the albumin binding of tryptophan during postoperative recovery: a possible link with central fatigue? **Brain Res Bull.** v.43, p.43-46, 1997.

## 9. ANEXOS

### 9.1 Parâmetros biométricos dos grupos sedentários.

**Anexo 1.** Valores de referência relativos aos parâmetros biométricos dos grupos sedentários com dieta controle e suplementada (50 % e 100 % de ACR)

| <b>Parâmetros</b>                       | <b>Controle</b> | <b>50 % de ACR</b> | <b>100 % de ACR</b> |
|---|-----------------|--------------------|---------------------|
| <b>Peso Inicial</b><br>(g)              | 240 ± 8         | 241 ± 18           | 241 ± 4             |
| <b>Peso Final</b><br>(g)                | 386 ± 7         | 383 ± 26           | 385 ± 12            |
| <b>Consumo de Ração</b> (g)             | 21,3 ± 1,0      | 21,6 ± 0,8         | 21,4 ± 1,0          |
| <b>Estimativa de Consumo de ACR</b> (g) | 508 ± 24        | 770 ± 27           | 1022 ± 70           |

### 9.2 Parâmetros plasmáticos dos grupos sedentários

**Anexo 2.** Valores de referência relativos aos parâmetros plasmáticos dos grupos sedentários com dieta controle e suplementada (50 % e 100 % de ACR)

| <b>Parâmetros</b>                  | <b>Controle</b> | <b>50 % de ACR</b> | <b>100 % de ACR</b> |
|------------------------------------|-----------------|--------------------|---------------------|
| <b>Glicose</b><br>(mg/dL)          | 141 ± 9         | 135 ± 10           | 140 ± 11            |
| <b>Glicose/Insulina</b><br>(µg/dL) | 28 ± 1,6        | 20 ± 1,7           | 19 ± 2,4            |
| <b>Amônia</b><br>(µg/ml)           | 2,15 ± 0,10     | 2,17 ± 0,27        | 2,26 ± 0,14         |
| <b>TRP Total</b><br>(µg/ml)        | 7,7 ± 1,5       | 9,0 ± 1,3          | 8,4 ± 0,7           |
| <b>AGL</b><br>(mmol/L)             | 0,15 ± 0,04     | 0,16 ± 0,03        | 0,16 ± 0,04         |

### 9.3 Parâmetros séricos dos grupos sedentários

**Anexo 3.** Valores de referência relativos aos parâmetros séricos dos grupos sedentários com dieta controle e suplementada (50 % e 100 % de ACR)

| <b>Parâmetros</b>                | <b>Controle</b> | <b>50 % de ACR</b> | <b>100 % de ACR</b> |
|----------------------------------|-----------------|--------------------|---------------------|
| <i>Insulina</i><br>(ng/ml)       | 7,9 ± 1,5       | 7,1 ± 0,7          | 8,0 ± 1,5           |
| <i>Corticosterona</i><br>(ng/ml) | 59 ± 18         | 60 ± 17            | 65 ± 15             |

### 9.4 Parâmetro sangüíneo dos grupos sedentários

**Anexo 4.** Valores de referência relativos ao parâmetro sangüíneo dos grupos sedentários com dieta controle e suplementada (50 % e 100 % de ACR)

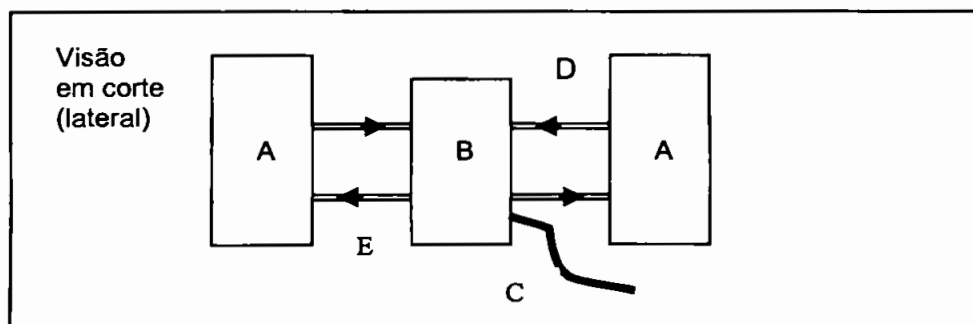
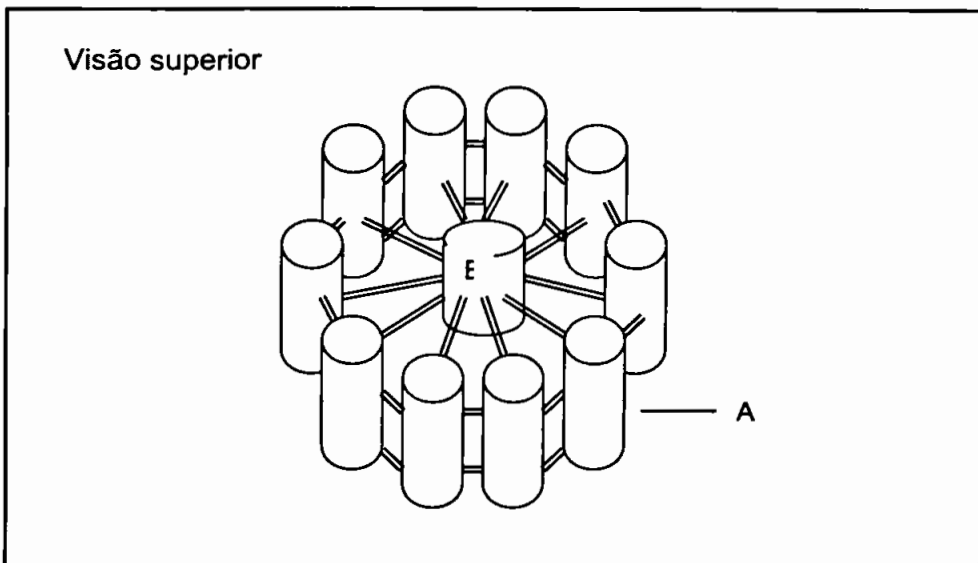
| <b>Parâmetros</b>          | <b>Controle</b> | <b>50 % de ACR</b> | <b>100 % de ACR</b> |
|----------------------------|-----------------|--------------------|---------------------|
| <i>Lactato</i><br>(mmol/L) | 1,3 ± 0,2       | 1,3 ± 0,4          | 1,3 ± 0,2           |

## 9.5 Parâmetros teciduais dos grupos sedentários

**Anexo 5.** Valores de referência relativos aos parâmetros teciduais dos grupos sedentários com dieta controle e suplementada (50 % e 100 % de ACR)

| <b>Parâmetros</b>  | <b>Controle</b> | <b>50 % de ACR</b> | <b>100 % de ACR</b> |
|--|-----------------|--------------------|---------------------|
| <b><i>Glicogênio hepático</i></b><br>(mg/100 mg de tecido)                                 | 1,20 ± 0,24     | 1,20 ± 0,24        | 1,18 ± 0,31         |
| <b><i>Glicogênio muscular</i></b><br><b><i>(gastrocnêmio)</i></b><br>(mg/100 mg de tecido) | 0,22 ± 0,03     | 0,22 ± 0,04        | 0,22 ± 0,05         |
| <b><i>Glicogênio muscular</i></b><br><b><i>(sóleo)</i></b><br>(mg/100 mg de tecido)        | 0,29 ± 0,07     | 0,33 ± 0,20        | 0,31 ± 0,03         |
| <b><i>5-HT</i></b><br><b><i>(hipotálamo)</i></b><br>(pg/mg de tecido fresco)               | 152 ± 14        | 142 ± 41           | 158 ± 41            |
| <b><i>Proteína hepática</i></b><br>(mg/100 mg de tecido)                                   | 11,15 ± 0,87    | 13 ± 1,9           | 11,36 ± 0,4         |
| <b><i>Proteína muscular</i></b><br><b><i>(gastrocnêmio)</i></b><br>(mg/100 mg de tecido)   | 12,38 ± 1,1     | 10,37 ± 1          | 10,48 ± 2,5         |

### Anexo 6. Desenho esquemático do aparelho de natação



(Adaptado de ROSSI, 2001).

A: tanques ou cubas de natação de PVC com 250 mm de diâmetro;  
 B: central de bombeamento, dividido em dois compartimentos (PVC);  
 C: mangueira para enchimento e esvaziamento do aparelho;  
 D: Tubo de controle de nível e retorno;  
 E: tubo de distribuição e recirculação;  
 (C, D e E são mangueiras transparentes de polietileno com 0,5 polegada de diâmetro).

Condições ideais do uso do aparelho e manuseio dos animais:

- água na temperatura de 29 a 33°C;
- secagem dos animais após a sessão de exercícios;
- troca de água diária e limpeza do aparelho de natação;
- tratamento da água com hipoclorito de sódio.