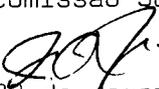


Universidade Estadual de Campinas
Faculdade de Engenharia de Alimentos
Departamento de Planejamento Alimentar e Nutrição

**Desenvolvimento de dietas para o desempenho físico.
Comparação de oligopeptídeos de α -lactoalbumina com a
proteína intacta como fonte protéico-energética no rato.**

PARECER

Este exemplar corresponde à redação final da tese defendida por ÉRIKA MARIA MARCONDES TASSI e aprovada pela Comissão Julgadora em 09.12.96. 
Campinas, 09 de dezembro de 1996
Prof.Dr. JAIME AMAYA-FARFÁN
Presidente da Banca

Tese apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas, para obtenção do título de mestre em Ciência da Nutrição

Aluna: Érika Maria Marcondes Tassi
Orientador: Prof. Dr Jaime Amaya-Farfán

1996



FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA F.E.A. - UNICAMP

T184d

Tassi, Érika Maria Marcondes

Desenvolvimento de dietas para o desempenho físico.

Comparação de oligopeptídeos de α -lactoalbumina com a proteína intacta como fonte protéico-energética no rato / Érika Maria Marcondes Tassi. -- Campinas, SP: [s.n.], 1996.

Orientador: Jaime Amaya-Farfán

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Campinas.
Faculdade de Engenharia de Alimentos.

1. Proteínas (metabolismo). 2. Esportes - nutrição. I. Amaya-Farfán, Jaime. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos. III. Título.

BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Jaime Amaya-Farfán

(orientador)



Prof. Dr. José Roberto Moreira de Azevedo

(membro)



Prof. Dr. Everardo Magalhães Carneiro

(membro)

Profª. Dra Maria Antônia Martins Galeazzi

(membro)

*DEDICO: Aos meus pais, irmãos, sobrinhos, cunhados
e familiares*

OFEREÇO: Ao Rodrigo

ÍNDICE

LISTA DAS PRINCIPAIS ABREVIATURAS	I
RESUMO	II
ABSTRACT	V
1-INTRODUÇÃO	1
2-REVISÃO DA LITERATURA	3
2.1-Histórico	3
2.2-Substratos energéticos durante o exercício	5
2.3-Mudanças metabólicas decorrentes do exercício físico	6
2.3.1-Metabolismo protéico	6
2.3.2-Glicose sérica	12
2.3.3-Glicogênio muscular	13
2.3.4-Lactato	15
2.3.5-Ácidos graxos livres	17
2.4 -Hidrolisados protéicos	20
2.5-O uso de hidrolisados protéicos	21
3 -OBJETIVOS	23
3.1-Geral	23
3.2-Específico	23
4 -MATERIAL E MÉTODOS	24
4.1-Material	24
4.1.1-Dietas experimentais	24
4.1.1.1-Composição da dieta	25
4.1.2-Animais	27
4.1.3-Grupos	28
4.1.3-Métodos	28
4.1.3.1-Determinação do ganho da massa corporal e ingestão alimentar	28
4.2-Procedimento experimental	29

Agradecimentos

- ☆Ao Prof. Dr. Jaime Amaya-Farfán pelo apoio, amizade, incentivo, dedicação e principalmente pelos ensinamentos científicos;
- ☆Ao CNPq pela bolsa concedida no decorrer do curso;
- ☆À Support pelo fornecimento da lactoalbumina e o hidrolisado (Oligopep);
- ☆A FAEP pela bolsa concedida para a finalização do trabalho;
- ☆Ao Prof. Dr. Everardo Magalhães Carneiro pela grande contribuição no desenvolvimento da parte experimental do trabalho;
- ☆Ao Prf. Dr. José Roberto Moreira de Azevedo pelo auxílio prestado principalmente na parte prática do trabalho;
- ☆Ao Prof. Dr. Eduardo Kokubun e a Clarice Yoshiko Sibuya pelo grande apoio técnico nas análises bioquímicas;
- ☆À Vera Lúcia Rodriguez Cruz pelo grande incentivo e compreensão em todas as etapas do curso de mestrado e especialmente pela amizade;
- ☆À Rosemeire Borges Nascentes pela amizade e principalmente o valioso auxílio prestado no desenvolvimento do trabalho;
- ☆À companheira de trabalho Wanderléia de Fátima Zóia, com quem muito aprendi, e que infelizmente encerrou sua jornada nesta vida muito cedo;
- ☆Ao Walfrido Kulh Svoboda pelo coleguismo e ter se mostrado amigo em momentos adequados;
- ☆À Renata Maria Teixeira Duarte, pelo coleguismo e apoio prestado no decorrer do trabalho;
- ☆À Juliana Escobar Magrini pela amizade e incentivo, apesar da distância;
- ☆Aos Professores e Funcionários do Departamento de Planejamento Alimentar e Nutrição da UNICAMP;
- ☆Aos Professores e Funcionários do Departamento Aos Professores e Funcionários do Departamento de Educação Física da UNESP de Rio Claro;
- ☆À Marcia, Veridiana e ao Claudio Alexandre Gobatto, pela ajuda nas análises;
- ☆À Eliete Carvalho Leite pelo auxílio com os animais experimentais;
- ☆À todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

4.3-Determinações bioquímicas	30
4.3.1-Glicose sérica	30
4.3.2-Ácidos graxos livres séricos	30
4.3.3-Lactato	31
4.3.4-Proteínas totais séricas	32
4.3.5-Albumina sérica	33
4.3.6-Glicogênio muscular	33
4.3.7-Glicogênio hepático	35
4.3.8-Proteína muscular	35
4.4-Characterização da α -lactoalbumina e seus oligopeptídeos	36
4.4.1-Hidrólise com ácido clorídrico	36
4.4.2-Aminograma	36
4.5-Tratamento estatístico	37
5-RESULTADOS E DISCUSSÃO	37
5.1- Composição da Lactoalbumina e seus oligopeptídeos	38
5.2- Natação	37
5.3- Determinações plasmáticas	41
5.3.1-Glicose sérica	42
5.3.2-Ácidos graxos livres	45
5.3.3-Lactato	47
5.3.4- Proteínas totais e Albumina sérica	50
5.4-Determinações teciduais	54
5.4.1 Glicogênio muscular e hepático	54
5.4.2-Proteína muscular	58
6-CONCLUSÃO	60
7-REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	61
8-ANEXO	71

ÍNDICES DAS TABELAS E FIGURAS

Tabela A -Composição das dietas (g/kg de dieta) utilizadas no ensaio	25
Tabela B -Composição da mistura mineral utilizada na preparação das dietas	26
Tabela C -Composição da mistura vitamínica utilizada na preparação das dietas	27
Tabela 1 -Parâmetros plasmáticos dos grupos treinados (T) e sedentários (S), que receberam as seguintes dietas: α -lactoalbumina (L), caseína (C) e oligopeptídeos (H).	42
Tabela 2 -Conteúdo, no ponto de exaustão, de glicogênio muscular (gastrocnêmio) glicogênio hepático e proteína muscular dos grupos treinados(T) e sedentários (S), que receberam as seguintes dietas: α -lactoalbumina (L), caseína (C) e oligopeptídeos (H).	53
Tabela 3 -Análise de Variância para avaliação do possível efeito do treinamento (NA), dieta e interação NA X Dieta, sobre a glicemia.	77
Tabela 4 -Análise de Variância para avaliação do possível efeito do treinamento (nível de atividade, NA), dieta e interação NA X Dieta sobre o conteúdo plasmático de AGL.	77
Tabela 5 -Análise de Variância para avaliação do possível efeito do treinamento (nível de atividade, NA), dieta e a interação NA X Dieta sobre o conteúdo de lactato no plasma.	77

Tabela 6- Análise de Variância para avaliação do possível efeito do treinamento (nível de atividade, NA), dieta e a interação NA X Dieta sobre a concentração plasmática de albumina.	78
Tabela 7- Análise de Variância para avaliação do possível efeito do treinamento (nível de atividade, NA), dieta e a interação NA X Dieta sobre a concentração de proteínas séricas totais.	78
Tabela 8- Análise de Variância para avaliação do possível efeito do treinamento (nível de atividade, NA), dieta e a interação NA X Dieta sobre o conteúdo de glicogênio muscular.	78
Tabela 9- Análise de Variância para avaliação do possível efeito do treinamento (nível de atividade, NA), dieta e a interação NA X Dieta sobre o conteúdo de glicogênio hepático.	79
Tabela 10- Análise de Variância para avaliação do possível efeito do treinamento (nível de atividade, NA), dieta e a interação NA X Dieta sobre o conteúdo de proteína muscular.	79
Figura 1 -Perfis aminoacídicos da α -lactoalbumina e os seus oligopeptídeo.	38
Figura 2- Concentração de glicose (mg/dl) em soro de ratos treinados e sedentários, que receberam a dieta L, dieta C e dieta H.	45
Figura 3- Concentração de ácidos graxos livres (mEq/l) em soro de ratos treinados e sedentários, que receberam a dieta L, dieta C e dieta H.	47
Figura 4- Concentração de Lactato (nmol/l) sérico de ratos treinados e sedentários, que receberam a dieta L, dieta C e dieta H.	50
Figura 5- Concentração albumina (g/dl) em soro de ratos treinados e sedentários, que receberam a dieta L, dieta C e dieta H.	51

Figura 6- Concentração de proteínas séricas totais (g/dl) em soro de ratos treinados e sedentários, que receberam a dieta L, dieta C e dieta H..	52
Figura 7- Conteúdo de glicogênio muscular (mg/100mg) de ratos treinados e sedentários, que receberam a dieta L, dieta C e dieta H.	59
Figura 8- Conteúdo de glicogênio hepático(mg/100mg) de ratos treinados e sedentários, que receberam a dieta L, dieta C e dieta H.	59
Figura 9- Conteúdo de proteína muscular (mg/100mg) de ratos treinados e sedentários, que receberam a dieta L, dieta C e dieta H.	59

LISTA DAS PRINCIPAIS ABREVIATURAS

AGL	Ácidos graxos livres
AMP	Adenosina monofosfato
ATP	Adenosina trifosfato
BCAA	Aminoácidos de cadeia ramificada
BCKAD	Cetoácido desidrogenase de cadeia ramificada
C	Caseína
CP	Creatina fosfato
GL	Grau de liberdade
L	Lactoalbumina
H	Hidrolisado da α -lactoalbumina
IMP	Inosina monofosfato
NA	Nível de atividade
P	Probabilidade
PFK	Fosfofrutoquinase
Pi	Fosfato inorgânico
S	Sedentários
SQ	Soma dos quadrados
SQM	Soma dos quadrados médios
T	Treinado

RESUMO

As proteínas parcialmente hidrolisadas vêm sendo empregadas na formulação de produtos especiais, tais como alimentos para fins clínicos e esportistas. Para a nutrição clínica, esses produtos são empregados devido à sua facilitada digestão e absorção, porém em produtos para esportistas o uso é atribuído somente às suas propriedades funcionais. O presente estudo teve como objetivo avaliar a eficácia de dietas contendo proteólisados de α -lactoalbumina como fonte protéico-energética, em relação à proteína intacta e em condições de alto dispêndio energético no rato, visando o desenvolvimento de dietas de desempenho superior para esportistas. Foram elaboradas dietas isoenergéticas/isoprotéicas, com 16% de proteína, sendo esta α -lactoalbumina (L), proteólisado de α -lactoalbumina (H) ou caseína (C). As demais características foram de acordo com as especificações do American Institute Nutrition (AIN-93G). Os ratos, de acordo com seu nível de atividade foram divididos em grupos treinados (T) e sedentários (S). O treinamento físico consistiu em sessões de 1h diária (cinco dias/semana) de natação, durante quatro semanas. No final do período de treinamento, os animais foram submetidos a teste de resistência. Após atingido o ponto de exaustão, os ratos foram sacrificados e deles retiradas amostras de sangue, fígado e músculo gastrocnêmio. Determinações analíticas de glicose sérica, ácidos graxos livres sérico, lactato, albumina e proteínas totais séricas, glicogênio hepático, glicogênio e proteínas musculares foram realizadas por técnicas rotineiras. Observou-se que, por razão do treinamento, o ponto de exaustão dos animais da categoria T foi atingido após um

tempo três vezes superior ao dos animais da categoria **S** ($152 \pm 8 \text{min} \times 48 \pm 10 \text{min}$), enquanto que as diferenças entre as dietas não foram significativas. Por outro lado, análise de variância das médias dos parâmetros bioquímicos mostrou diferenças significativas ($p < 0.05$) entre as glicemias dos ratos, tanto em função do nível de atividade quanto em função do tipo de dieta. Dentre os ratos treinados e sedentários, os grupos **H** finalizaram com índices glicêmicos aceitáveis de 56 e 78 mg/dL, respectivamente; sendo estes 74 e 61% maiores que os correspondentes aos grupos **TL** e **SL** ($p < 0.05$). Observou-se ainda que as glicemias destes últimos não diferiram das dos grupos **TC** e **SC**. As dietas **SH** e **TH** resultaram em níveis de albumina sérica 81 e 52% superiores àqueles correspondentes às dietas **TL** e **SL**, enquanto que os níveis de lactato não mostraram qualquer dependência do tipo de fonte protéica. Tanto nos animais treinados como os sedentários, a dieta **H** resultou em níveis finais significativamente maiores ($p < 0.05$) no conteúdo de glicogênio muscular, não havendo diferença significativa entre as dietas **C** e **L**. Diferença significativa ($p < 0.05$) também foi encontrada para os níveis de glicogênio muscular, mas não para o glicogênio hepático, entre os grupos **TH** e **TL**. Os resultados sugerem que o proteólisado da α -lactoalbumina, apesar de não melhorar os tempos de chegada dos animais à exaustão física, permitiu que os mesmos finalizassem o teste com índices significativamente superiores de glicogênio muscular, e de glicose e albumina sérica. Os resultados também sugerem que o hidrolisado de α -lactoalbumina pode ser usado com vantagem na formulação de produtos para esportistas.

ABSTRACT

The utilization of protein hydrolyzates as ingredients for special, medical or sports foods has been considered, but mostly on the basis of better functional properties or facilitated absorbability. In this study we report the evaluation of diets in which partly hydrolyzed α -lactoalbumin was fed to exercising rats as a source of protein and energy, in comparison with the intact protein. Three isoenergetic, isoproteic diets containing 16% protein, either as α -lactoalbumin (**L**), hydrolyzed α -lactoalbumin, (**H**) or whole casein (**C**, also as assay control) were prepared according to specifications of the American Institute of Nutrition (AIN)-93G. Thirty adult Wistar rats were segregated into two groups: one undergoing 1hr daily, 5-day-a-week swimming (**T** or trained) and another exempted from physical activity (**S** or sedentary). Physical activity was extended for four weeks, after which the animals from both groups were subjected to a swimming resistance test. At exhaustion, the animals were killed and samples of blood, liver and gastrochnaemius were collected for analysis. Analytical determinations of serum glucose, lactate, free fatty acids, albumin and total proteins, in addition to liver glycogen and muscle glycogen and proteins were accomplished by standard techniques. It was observed that, as a result of training, exhaustion was reached by the animals of group **T** at a time three times greater than that of rats of group **S** (152 ± 8 vs 48 ± 10 min), while the diets had no appreciable influence on this parameter. On the other hand, analysis of variance of the data for the biochemical parameters showed significant differences

($p < 0.05$) between the blood glucose levels, both as a function of training and the type of diet. Regardless of the level of activity, the **H**-diet subgroups finalized the test with glycemic values (56 and 78mg/dL for the **T** and **S** groups, respectively) that were 74 and 61% higher than subgroups **TL** and **SL**, whereas no significant difference was found between subgroups **TC** and **SC**. Feeding the diets **TH** and **SH** also resulted in serum albumin levels in the rat that were 81 and 52% greater than those feeding on diets **TL** and **SL**, correspondingly, but no effect on serum lactate concentration was found from the type of protein. Diet **H** was observed to allow for greater final reserves of muscle glycogen in both groups, while those of subgroups **C** and **L** were essentially the same. Significant differences ($p < 0.05$) were also found for muscle, but not for liver glycogen between subgroups **TH** and **TL**. Our results demonstrate that feeding the α -lactoalbumin hydrolyzate, in spite of not altering the end-point of physical exercise, guarantees significantly higher levels of serum glucose and albumin, as well as muscle glycogen to the rat. Data also suggest that α -lactoalbumin hydrolyzates could be used, with advantage, in the formulation of sport foods.

1-INTRODUÇÃO

Atualmente são poucas as pesquisas sobre nutrição e esporte, porém a nutrição é de fundamental importância na fisiologia do exercício pelo fato de ser através dos nutrientes, que o organismo transforma a energia química em mecânica.

O tipo de substrato utilizado durante o exercício depende da intensidade e duração do mesmo. Nos exercícios de curta duração e alta intensidade, o organismo utiliza as reservas imediatas e limitadas de creatina fosfato (CP) e adenosina trifosfato (ATP). Já nos exercícios prolongados ocorre a utilização dos carboidratos e lipídeos; uma pequena parte das proteínas são degradadas e seus aminoácidos, oxidados para assegurar o aporte energético.

Antigamente acreditava-se que a participação das proteínas no metabolismo energético fosse mínima, porém alguns pesquisadores estimam que as proteínas contribuem com 10-15% do aporte energético no exercício de longa duração (LAYMAN, 1987).

Tendo em vista o papel energético da proteína no exercício prolongado, várias pesquisas sobre exercício e metabolismo protéico vêm sendo realizadas na tentativa de elucidar qual a quantidade de proteína que deve ser consumida pelos esportistas (KREIDER, 1993; BURKE, 1993).

Nas últimas décadas, a preocupação com a saúde tem levado muitas pessoas a praticarem esportes. Junto com esta prática, tem se registrado um

aumento do consumo de produtos formulados, específicos para essa população e um crescimento no número de fábricas para os mesmos.

Apesar de ainda não se saber exatamente a quantidade ou qualidade da proteína, assim como a forma em que a mesma deveria ser consumida, vários formulados já contêm a proteína na forma hidrolisada, devido às melhores propriedades funcionais que os mesmos conferem.

O uso de hidrolisados protéicos é comum na nutrição clínica pois a proteína intacta ingerida necessita de um processo de digestão para depois ser absorvida. As proteínas são mais rapidamente absorvidas se fornecidas na forma de oligopeptídeos (di e tripeptídeos), do que na forma de aminoácidos livres ou proteína intacta (MEREDITH *et al.*, 1990). As proteínas parcialmente hidrolisadas (oligopeptídeos), possuem várias propriedades funcionais, as quais vêm sendo usadas na nutrição enteral, em produtos medicinais e vários outros produtos, incluindo alguns para nutrição esportiva (FROJAK, 1994).

Considerando que existe uma tendência tecnológica à utilização de formulados para esportistas contendo proteínas na forma hidrolisada, mesmo sem haver suficiente base científica sobre a utilização nutricional dos proteolisados, o presente estudo teve a intenção de verificar o efeito metabólico de dietas contendo a fonte protéica sob as formas de proteína intacta e hidrolisada (oligopeptídeos), em ratos submetidos ao exercício físico.

2-REVISÃO DA LITERATURA

2.1-Histórico

O consumo de alimentos não está relacionado apenas às necessidades biológicas do homem, mas também aos aspectos sociais, culturais e econômicos, que determinam freqüentemente o que, quando e como comer. Na sociedade moderna o indivíduo não pensa na alimentação apenas como uma oportunidade para se abastecer de energia para execução de suas atividades diárias, ou de nutrientes para a constituição de seu corpo. Já para esportistas o conceito de alimentação tem um significado especial que faz parte da fisicultura pois ele aprende a função nutricional do alimento, sendo esta uma variável muito importante para a obtenção de uma melhor performance (VAN DER BEEK, 1985).

A relação entre alimentação e exercício tem uma longa história, a qual foi recentemente revista por SIMOPOULOS (citado por BUSKIRK, 1990). Sabe-se que treinadores de atletas que ocupavam uma importante posição na antiga sociedade Grega, que ensinavam habilidades atléticas, preconizavam o uso de dietas. Papa de aveia, queijo, frutas e tortas constituíam os seus hábitos alimentares; comia-se carne apenas ocasionalmente. A refeição composta de carne apareceu por volta do século XV A.C. e possivelmente alcançou seu auge com Milo de Creta, que venceu numerosas competições de luta grega entre o período de 536 a 520 A.C.

Milo comia 9 Kg de Carne, 9 Kg de Pão, acrescido de 8,5 l de vinho por dia. Mesmo que nos dias de hoje, excesso de alimentação seja empregado por alguns atletas robustos, a dieta de Milo continua a impressionar .

A medicina científica Grega começou a delinear uma linha de dieta, por exemplo, nutrição junto com exercício, formando parte da dieta de treinamento. O conceito de uma saúde adequada foi considerado pelos Gregos como importante, e muitos treinadores profissionais acreditavam nesta linha de dieta. Hipócrates, em sua dieta I, enfatizou que, se houvesse alguma deficiência alimentar ou no exercício, o corpo cairia enfermo. O conceito que atletas necessitavam de dietas especiais foi aderida, levando em consideração as características genéticas. SIMOPOULOS (citado por BUSKIRK, 1990), sumarizando nutrição e performance desde a primeira olimpíada em 776 A.C. até 393 D.C., apresenta a seguinte visão:

“ Em um futuro próximo, a pesquisa vai nos tornar possível elaborar dietas especificando o tipo e quantidade de exercício e o tipo de alimento com base no perfil genético, no atleta, e no tipo de trabalho do indivíduo no ambiente em que ele vive e na estação do ano”. Uma previsão ambiciosa, mas uma perspectiva para motivar os pesquisadores.

2.2-Substratos energéticos durante o exercício

Para o exercício ser executado é necessário que o organismo disponha de substratos energéticos, com os quais o tecido muscular possa transformar energia química em mecânica. Energia química pode ser derivada das reservas imediatas e limitadas de creatina fosfato (CP) e adenosina trifosfato (ATP) ou da oxidação dos carboidratos, lipídeos e alguns aminoácidos. Segundo YOUNG *et al.* (1985), o efeito de vários fatores como a intensidade e duração do exercício, estado de treinamento e recente história nutricional, são colocados como determinantes para o tipo de combustível usado durante o exercício.

No início, do exercício as reservas limitadas de CP e ATP e o metabolismo anaeróbico são responsáveis pelo suprimento energético. A medida em que o exercício se prolonga, e atinge o “steady-state”, o principal fornecedor de energia é o sistema aeróbico. O sistema aeróbico libera energia para a produção de ATP através da oxidação dos carboidratos, lipídeos e, às vezes, de proteínas, em dióxido de carbono e água. O glicogênio é depletado na medida que aumenta a demanda energética, e tem sido postulado que a depleção do glicogênio muscular e/ou desenvolvimento de hipoglicemia sejam os principais fatores limitantes do exercício prolongado (COSTILL *et al.*, 1977).

A primeira hora do exercício é acompanhada por um aumento na mobilização de ácidos graxos livres (AGL) do tecido adiposo e de glicose

hepática. A oxidação de AGL é elevada, passando a responder pelo maior aporte energético nas atividades físicas de longa duração, uma vez que a formação de ATP é mais eficiente (WAHREN, 1979).

Durante muito tempo atletas e fisiologistas admitiam o uso de carboidratos como principal fonte energética para o exercício. Pesquisas recentes, entretanto, têm dado grande importância aos lipídeos e proteínas como fonte energética para o exercício prolongado (LAYMAN, 1987). Segundo CAHILL (1970), quando terminam as reservas de glicogênio e gorduras consumíveis, algumas proteínas musculares são rapidamente degradadas e seus aminoácidos utilizados como substratos para a produção de energia desde que todos os órgãos possuam condições normais de funcionamento.

2.3-Mudanças Metabólicas Decorrentes do Exercício Físico

2.3.1-Metabolismo protéico

O tema do metabolismo das proteínas durante o exercício físico tem sido pouco abordado na literatura, talvez pelo fato de ter se acreditado que a participação dos aminoácidos no metabolismo energético fosse mínima. A idéia de que os aminoácidos servem como combustível durante o exercício surgiu em 1851, quando Liebig propôs que a proteína era o primeiro combustível para o trabalho muscular (LAYMAN, 1987), posição esta que,

desde 1860, foi combatida por Voit, um dos alunos de Liebig.

Para uma melhor compreensão, podemos considerar o metabolismo protéico englobando a biossíntese dos aminoácidos e das proteínas, seguida de degradação protéica, oxidação dos aminoácidos em músculo e fígado, a utilização do esqueleto carbônico dos aminoácidos na gliconeogênese e a produção e reciclagem da uréia (DOHM *et al.*, 1985).

Recentemente LINDER (1991), relatou que o exercício físico reduz a síntese protéica e leva a uma diminuição do conteúdo de proteínas no músculo, fígado e plasma.

DOHM *et al.* (1985), examinando a síntese protéica em músculo perfundidos de ratos após o exercício, observaram que este diminuía a taxa de síntese protéica e que a magnitude do efeito era proporcional à duração e intensidade do esforço. Ratos submetidos ao exercício leve de natação por uma hora, diminuíram a síntese protéica em 17%. O exercício mais intenso de corrida em esteira reduziu a síntese em 30% e uma corrida exaustiva de 3 horas inibiu a síntese em 70%. Esses estudos sugerem que a degradação protéica seja altamente influenciada pelas condições e metodologias empregadas para sua própria determinação.

Utilizando a 3-metilistidina, que é um indicador da quebra da proteína muscular e que é liberada na urina, esses mesmos autores relataram que ocorre um aumento da degradação protéica durante o exercício. Por outro lado, MEREDITH *et al.* (1990), concluíram que a excreção de 3-metilistidina, não é afetada pela proteína ingerida.

Em relação à degradação protéica, RENNIE *et al.* (1981), utilizando humanos submetidos a exercícios aeróbicos, constataram que ocorre uma condição catabólica durante sua execução. O experimento consistia em exercitar seis indivíduos do sexo masculino numa esteira por 3,75h a 50% do VO₂ máx., após o qual era medida a taxa de degradação protéica. Esses investigadores, observaram que durante o exercício, a taxa de degradação aumentou em 54%.

BOOTH & WATSON (1985), observaram que as taxas de degradação da proteína muscular diminuía durante o exercício se a duração do mesmo fosse menor que 12h, mas aumentava para tempos mais longos. Após exercício exaustivo, entretanto, a degradação protéica no músculo esquelético poderá ser elevada. LEMON & MULLIN (1980), constataram que as proteínas são utilizadas durante o exercício em maior extensão do que geralmente se assume e que, dependendo de certas condições, o carbono da proteína poderá contribuir significativamente para o manejo energético do exercício. DEVLIN *et al.* (1990), por sua vez, demonstraram que após o exercício não ocorre uma reposição imediata das proteínas corpóreas devido a uma diminuição na síntese de proteínas.

LAYMAN (1987), relata que a utilização dos aminoácidos como fonte de energia durante o exercício é similar às condições observadas durante períodos de jejum no qual os aminoácidos servem de substrato para a gliconeogênese.

O sítio primário para a oxidação da maioria dos aminoácidos é o

figado. O tecido hepático contém altas concentrações de enzimas, incluindo aminotransferases, que removem os α -amino-grupos durante o início da oxidação de aminoácidos. Excetuam-se os aminoácidos de cadeia ramificada (BCAA), cujo metabolismo é efetuado no músculo. O figado possui um conteúdo muito baixo de aminotransferases de cadeia ramificada que resulta na liberação de BCAA para a circulação. Os tecidos extra-hepáticos, incluindo rins e músculo esquelético, contêm aminotransferases de cadeias ramificadas e são responsáveis pela iniciação das vias oxidativas. Entre esses tecidos, o músculo esquelético parece ser o tecido predominante na oxidação dos BCAA (ADIBI, 1976).

Em recente revisão KREIDER (1993), verificou que ocorre oxidação dos aminoácidos ramificados (leucina, valina e isoleucina), durante o exercício. É certo que o metabolismo dos BCAA no músculo esquelético, depende em parte da fosforilação-desfosforilação da enzima cetoácido desidrogenase de cadeia ramificada (BCKAD) (HOOD & TERJUNG, 1991).

Durante períodos de aumento das necessidades energéticas como inanição, trauma e exercícios, níveis aumentados de BCAA estimulam a BCKAD e os BCAA são oxidados para o fornecimento energético o músculo esquelético. WAGENMAKES *et al.*(1991), observaram que ocorre um aumento na oxidação dos BCAA durante o exercício e que o consumo de carboidratos anula esse aumento.

A leucina, segundo BURSE & REID (1975), regula o “turnover” da proteína no músculo, o qual é o maior fator na regulação adaptativa da

economia do combustível corpóreo.

HENDERSON *et al.* (1985), utilizando L-¹⁴C leucina em ratos treinados e não treinados durante o repouso e o exercício, relataram que no exercício, a oxidação da leucina em ratos treinados excede significativamente a de ratos não treinados, sendo que o aumento da oxidação da leucina por ratos treinados é ainda mantido no repouso. Esses autores concluíram que o treinamento aumenta o “turnover” e a oxidação da leucina.

STEIN *et al.* (1989), estudando o efeito do exercício sobre o metabolismo protéico e energético em humanos, concluíram que o fluxo de leucina para o músculo diminui durante as primeiras 4h de exercício.

BROOKS (1987), confirmou a influência do treinamento sobre a oxidação da leucina em ratos. Entretanto, este autor afirma que em humanos não existe qualquer influência do treinamento na oxidação de aminoácidos.

WOLFE *et al.* (1982) estudaram as alterações que ocorrem durante o exercício prolongado em indivíduos do sexo masculino. Esses autores utilizaram uma infusão constante de lisina e leucina marcadas e observando decréscimo de 48% na síntese protéica pelo indicador leucina e 17% pelo indicador lisina. O estudo também indicou que, apesar do aumento da oxidação da leucina durante o exercício, a produção e concentração de uréia não muda; portanto, durante o exercício, a produção de uréia não reflete necessariamente todos os aspectos do metabolismo dos aminoácidos.

Dezesseis aminoácidos são conhecidos como aminoácidos glicogênicos, pois suas cadeias de carbono podem ser transformadas para fosfoenolpiruvato e este para glicose. A gliconeogênese é um importante mecanismo regulatório, onde os aminoácidos contribuem para a manutenção dos níveis de glicose, prevenindo a hipoglicemia durante o exercício.

Alguns trabalhos sugerem que deve ocorrer um aumento da gliconeogênese durante o exercício. FELIG & WAHREN (1971), verificaram que a síntese de alanina no músculo é aumentada durante o exercício, provavelmente como consequência da elevada disponibilidade de piruvato e grupos amino. A alanina circulante serve como um importante carreador de grupos amino dos músculos periféricos para o fígado, particularmente durante o exercício. Por outro lado ADIBI (1976), mostrou que ocorre um aumento da gliconeogênese durante o jejum, sendo que o exercício induz condições semelhantes às observadas durante períodos de jejum ou de restrição alimentar. BROOKS (1987), constatou que, durante o exercício os aminoácidos desempenham um importante papel na sustentação do mesmo

Outro importante indicador do metabolismo protéico, é a uréia. DOHM *et al.* (1982), encontraram uma elevada excreção de uréia urinária em ratos durante as primeiras 12h após o exercício, apesar de, LEMON & MULLIN (1980), não terem encontrado alteração do nitrogênio uréico urinário, mas sim observaram um aumento do nitrogênio uréico no suor de homens submetidos a 1h de exercício de natação, com o estoque de glicogênio depletado. LINDER (1991), relatou que ocorre um aumento na

uréia plasmática e elevada excreção de nitrogênio urinário durante e após o exercício de longa duração. A oxidação da leucina é acelerada se o estoque de glicogênio estiver depletado.

2.3.2-Glicose Sérica

Durante o exercício prolongado a concentração de glicose sérica é mantida. Caso contrário, entram em ação mecanismos alternativos visando compensar essa situação. A elevada utilização de glicose por tecidos periféricos, é acompanhada pela contínua reposição de seu “pool” sérico. O fígado através da glicogenólise e da gliconeogênese, desempenha um importante papel na manutenção de glicose para as células vermelhas e o cérebro (WAHREN, 1979).

IVEY & GAESSER (1987), relataram que não houve diferença nas concentrações de glicose sérica em ratos machos e fêmeas treinados.

GOBATTO (1993), estudando o efeito da desnutrição em animais submetidos ao exercício físico, observou que não houve diferença significativa na glicemia de repouso de ratos treinados recuperados de desnutrição e ratos treinados controle (não submetidos à desnutrição); entretanto os valores glicêmicos foram maiores nos ratos treinados (tanto recuperados quanto controle), quando comparados aos ratos sedentários controle.

HERMANSEN *et al.* (1967), estudando a glicemia de homens

treinados e sedentários, exercitados até a exaustão, não encontraram diferença significativa entre os indivíduos treinados e sedentários, sendo a concentração de glicose média de 93 e 87mg/100ml para os dois grupos, respectivamente. A glicose sérica apresentou uma pequena queda no início do exercício, mantendo-se constante até a exaustão.

Na célula muscular, a glicose é transportada por uma família de proteínas, sendo que a isoforma Glut 4 é a forma predominantemente encontrada no músculo. A Glut 4 é ativada em resposta à secreção de insulina ou à contração muscular (SALWAY, 1994). HOUMARD *et al.* (1995), em um estudo realizado com humanos, observaram que a quantidade de Glut 4 aumentava significativamente no músculo, em resposta a um curto período de treinamento. Como observado por REN *et al.* (citado por HOUMARD *et al.*, 1995), em ratos ocorre um aumento de 50% no conteúdo da Glut 4 devido ao treinamento físico.

2.3.3-Glicogênio muscular

A existência de glicogênio no tecido muscular foi primeiro descrita por Claude Bernard em 1859. O importante papel do glicogênio no metabolismo aeróbico muscular foi definido por Hultman (citado por WAHREN, 1979) e sua utilização varia de acordo com o condicionamento físico.

Pesquisadores acreditam que a depleção do glicogênio muscular e/ou

o desenvolvimento da hipoglicemia, sejam as principais causas da exaustão física (COSTILL, 1977). Já em 1967, HERMANSEN *et al.* relatavam que a depleção do glicogênio muscular, total ou parcial, poderia ser causa da exaustão durante a atividade física prolongada.

RENNIE *et al.* (1976), foram pioneiros em monitorar a diminuição dos estoques de glicogênio muscular, até a depleção, em ratos submetidos a exercícios em esteira rolante.

Que o glicogênio é um importante substrato energético para o músculo durante o exercício, é fato amplamente demonstrado. Em estudos realizados por KARLSSON *et al.* (1974), verificou-se que tanto o rato como o ser humano submetido ao treinamento físico, apresentam menor velocidade de redução dos níveis de glicogênio muscular em relação aos sedentários.

Segundo BUSKIRK (1990), a degradação e utilização do glicogênio no músculo é influenciada por vários fatores. Os íons Cálcio aumentam a atividade da fosforilase b (ativação da fosforilase b para a) e junto com o fosfato inorgânico (Pi) liberado através da contração muscular, promovem o aumento da glicogenólise. Em repouso, a fosforilase está na forma inativa b, devido às baixas concentrações de íons cálcio. Um aumento na concentração de adenosinamono-fosfato (AMP) e inosinamono-fosfato (IMP) leva à ativação da fosforilase. A degradação do glicogênio muscular é regulada pela concentração inicial de glicogênio, mais o efeito combinado da epinefrina (que aumenta) e insulina (que diminui a taxa de degradação).

É certo que a disponibilidade de outros substratos no sangue e a performance física poderão influenciar também a glicogenólise muscular.

Várias pesquisas vêm sendo realizadas na tentativa de descobrir como preservar o glicogênio muscular durante o exercício de longa duração. Segundo COSTILL *et al.* (1977), um aumento na concentração plasmática de AGL resultaria na diminuição da utilização de glicogênio, enquanto que a diminuição do AGL disponível, aumenta a sua utilização.

2.3.4-Lactato

O lactato é amplamente aceito como um indicador do metabolismo anaeróbico glicolítico. O lactato é o produto final da via Embden-Meyerhof, a qual fornece uma pequena quantidade de energia que provém da quebra da glicose em duas trioses (MONTGOMERY, 1990).

Muitos experimentos têm demonstrado que não é necessário o músculo estar em anaerobiose para que ocorra a produção de lactato. Em atividade submáxima existe um pequeno aumento na concentração de lactato, tanto sangüíneo quanto muscular, em indivíduos treinados para provas de resistência, versus aqueles não treinados (YOUNG, 1985).

O aumento da concentração ocorre quando a taxa de formação de ácido láctico no interior da célula é maior que a velocidade de oxidação deste produto (BROOKS, 1986). A acidose metabólica no interior da célula muscular reduz a capacidade de produção de força pela inibição das

proteínas contráteis e promovem inibição da fosfofrutoquinase (PFK), enzima chave na via glicolítica pela sua função na ressíntese de ATP.

O lactato formado durante o exercício, entretanto, poderá ser transformado em glicose (ciclo de Cori) e/ou ser removido pelos processos oxidativos. Segundo BROOKS (1986), aproximadamente vinte por cento do lactato é convertido em glicose e mais de setenta e cinco por cento é removido através da oxidação.

GOLLNICK *et al.* (1985), relatam que em resposta ao treinamento físico também ocorre uma maior utilização dos ácidos graxos livres. Esse resultado, tomado em conjunto com o afirmado por COSTILL *et al.* (1977), significa que o treinamento físico deve resultar em uma menor utilização do glicogênio e conseqüentemente uma menor concentração de lactato sanguíneo.

O treinamento de resistência altera a resposta hormonal no exercício bem como aumenta a densidade mitocondrial no músculo. Ambas adaptações podem alterar a concentração de lactato em exercícios submáximos. O aumento da densidade mitocondrial em músculos treinados estimula portanto o metabolismo oxidativo (MONTGOMERY, 1990).

FAVIER *et al.* (1986), observaram que no músculo de ratos treinados e sedentários, ocorre uma adaptação que resulta em menor produção de lactato pelo músculo durante a atividade de contração.

FOX *et al.* (1991), relatam que em humanos o treinamento físico submáximo reduz a concentração de ácido láctico para uma mesma carga de

trabalho.

ROTH (1991), estudando ratos submetidos a diferentes treinamentos de velocidade e resistência muscular, observou o aumento da atividade de transporte de lactato do músculo para o sangue.

Outros estudos relatam que durante o exercício em condições anaeróbicas, devido a um déficit na captação e distribuição de oxigênio, ocorre um estímulo à glicogenólise e glicólise subsequente e a glicólise prossegue sem a utilização do seu produto pelas mitocôndrias, o que resulta no acúmulo de ácido láctico (BROOKS, 1986). Segundo ROTH (1991), o lactato intramuscular e a sua taxa de liberação aumentam logo após o início do exercício.

A fadiga proveniente de exercícios de curta duração é resultado do elevado nível de íons hidrogênio (H^+). Um aumento na quantidade de H^+ intracelular pode alterar o metabolismo da glicose, através da inibição da atividade de enzimas como a lactato-desidrogenase e fosfofrutoquinase (MONTGOMERY, 1990).

2.3.5-Ácidos graxos livres (AGL)

A utilização das gorduras como energia pelo músculo humano exercitado, foi demonstrada por Christensen e Hansens em 1939, através de coeficiente respiratório. Esses pesquisadores entretanto não especificaram qual a forma química da gordura que foi utilizada. Métodos de medida

direta do metabolismo de gorduras pelo músculo exercitado não eram disponíveis até que, em 1956, três grupos independentes identificaram o importante papel do transporte de AGL do tecido adiposo para outros tecidos, onde os AGL participam do metabolismo energético. No plasma, os AGL estão ligados à albumina, a qual serve como uma proteína de transporte para os ácidos graxos livres não solúveis em água. No plasma encontramos vários AGL com diferentes cadeias e número de duplas ligações (WAHREM, 1979).

Durante o exercício, a concentração de AGL séricos sofre uma diminuição passageira, seguida de uma elevada utilização (HERMANSEN *et al.*, 1967). No exercício de longa duração, os principais nutrientes oxidados são os carboidratos e as gorduras e, quando necessário, algumas proteínas (FOX *et al.*, 1991). Tem sido demonstrado que a depleção dos estoques de carboidratos é um dos fatores limitantes do exercício de longa duração, enquanto que RENNIE *et al.* (1976), colocam que a diminuição da oxidação dos carboidratos pode ser observada em músculos adaptados ao exercício os quais em compensação, demonstram maior capacidade de oxidar os AGL. Em adição, o aumento da densidade mitocondrial no músculo treinado proporciona maior poder de oxidação dos AGL pelo tecido muscular.

TARNOPOLSKY *et al.* (1990), demonstraram que durante o exercício prolongado, mulheres apresentavam elevada utilização de lipídeos e baixo metabolismo de carboidratos e proteínas, em relação a homens treinados ou sedentários. Nos homens, os níveis plasmáticos de insulina

eram baixos e os de epinefrina elevados, levando a uma maior glicogenólise e catabolismo protéico.

HICKSON *et al.* (1977), demonstraram que o ponto de exaustão depende da quantidade de AGL. Esses autores, usando um protocolo experimental em que ratos eram submetidos ao exercício físico até a exaustão, aumentaram a concentração de AGL sérica mediante a administração de óleo de milho, por sonda gástrica, podendo constatar o atraso da chegada à exaustão dos animais.

BAGBY *et al.* (1978), estudaram o efeito da infusão de glicose e lactato em ratos treinados sobre a depleção do glicogênio muscular e hepático. Esses autores observaram que, no momento da exaustão, o grupo treinado que não recebeu infusão desses substratos, aumentou a concentração de AGL de repouso, enquanto que os animais que receberam a infusão apresentaram concentrações reduzidas de lactato.

Segundo COSTILL *et al.* (1977), concentração sérica elevada de AGL diminui a utilização do glicogênio, enquanto que a diminuição de AGL disponível conduz à depleção do glicogênio.

2.4-Hidrolisados protéicos

Os hidrolisados protéicos podem ser obtidos através da hidrólise de proteínas com enzimas, ácidos ou bases, mas o uso de enzimas é o método preferido para a obtenção de hidrolisados com aplicações nutricionais. O uso de enzimas proteolíticas produz hidrolisados contendo misturas de peptídeos complexas mas definíveis, e dentro dos quais os aminoácidos não sofrem degradação. Por outro lado, a hidrólise com ácido ou base pode produzir D-aminoácidos a partir da forma L dos mesmos (racemização) e formar substâncias potencialmente tóxicas como a lisinoalanina (LAHL & BRAUN, 1994).

A maioria dos proteolisados enzimáticos apresentam propriedades funcionais desejáveis como solubilidade aumentada, viscosidade reduzida e aumento significativo do poder emulsificante, gelificante e de formação de espuma, ocasionadas pelo abaixamento do peso molecular (HUFFMAN, 1996).

Um dos principais problemas em relação à utilização de hidrolisados na alimentação é o gosto amargo. Tal alteração sensorial é decorrente da liberação de fragmentos poli e oligopeptídeos de atividade físico/química aumentada e contendo um certo grau de hidrofobicidade. Segundo Ney (citado por PEDERSEN, 1994), o amargor é em função do grau de hidrofobicidade e do tamanho do peptídeo. Na prática o problema do amargor é contornado com o grau de hidrólise e os vários sistemas

enzimáticos disponíveis.

Propriedades funcionais dos polipeptídeos, combinadas com as recentes descobertas tecnológicas para a hidrólise de proteínas, possibilitam a produção de hidrolisados protéicos com alta palatabilidade (FROKJAER, 1994), sendo estes bastante utilizados em produtos com aplicação nutricional. Os hidrolisados de caseína, proteínas do soro e proteínas da soja, geralmente são os mais utilizados em produtos destinados para idosos, esportistas e crianças (LAHL & BRAUN, 1994).

2.5-O Uso de hidrolisados protéicos

Vários estudos relatam que na mucosa intestinal, o sistema de transporte de peptídeos é diferente do sistema de transporte de aminoácidos. Segundo ADIBI (1971), em um estudo realizado com humanos, onde foram testadas soluções contendo glicilglicina, glicileucina e quantidades equimolares de glicina livre e leucina livre, observou-se que o desaparecimento de dipeptídeos do lúmen intestinal é realizado principalmente por absorção intacta, sem prévia hidrólise, e que a concentração plasmática de leucina e glicina é mais elevada quando comparada com a proveniente dos respectivos aminoácidos livres. Desta forma, os peptídeos apresentam vantagens fisiológicas em relação aos aminoácidos livres.

As proteínas hidrolisadas até a forma de oligopeptídeos, possuindo

as em várias propriedades funcionais, já mencionadas, vêm sendo usadas na nutrição clínica, na elaboração de produtos medicinais e vários outros, incluindo alguns para a nutrição esportiva (FROKJAER, 1994).

Na nutrição clínica, os hidrolisados são oferecidos enteralmente para pacientes que apresentam fistulas gastrointestinais, doenças inflamatórias do intestino, síndrome do intestino curto, pancreatite, obstrução parcial do intestino, neoplasias e neuropatias degenerativas (ADIBI, 1976). Nestes casos, a utilização de hidrolisados tem apresentado vantagens do ponto de vista digestivo e absorptivo.

Além das vantagens nutricionais, alguns peptídeos apresentam também atividade fisiológica marcante, agindo diretamente como neurotransmissores ou indiretamente, tendo um papel na secreção de hormônios, ativação de enzimas e de receptores intestinais (HARPER, 1990). Esses peptídeos são conhecidos como peptídeos biologicamente ativos. As proteínas do leite, por exemplo, constituem rica fonte de peptídeos biologicamente ativos tais como exorfinas (casomorfina), fosfopeptídeos e imunopeptídeos.

3-OBJETIVOS

3.1-Geral

Na tentativa de avaliar as características das formas do nitrogênio como fonte protéico-energética, o presente estudo se propôs verificar a eficácia dos hidrolisados (oligopeptídeos), em relação à proteína intacta como fonte protéico-energética, em condições de alto dispêndio energético utilizando o rato como modelo experimental, visando o desenvolvimento de dietas de desempenho superior para esportistas.

3.2-Específico

1- Determinar se existe vantagem em formular as dietas de ratos Wistar treinados em natação com hidrolisados de α -lactoalbumina (oligopeptídeos), em relação ao uso da α -lactoalbumina inteira.

2- Comparar as possíveis vantagens dos animais treinados com grupos paralelos que não se encontram sob a influência de treinamento.

3- Usar parâmetros bioquímicos:

Glicogênio muscular

Glicogênio hepático

Glicose sérica

Lactato sérico

Albumina sérica

Ácidos graxos livres séricos

Proteínas séricas totais

Proteínas musculares

e o parâmetro físico do tempo de chegada à exaustão.

4-MATERIAL E MÉTODOS

4.1-Material

4.1.1-Dietas experimentais

Foi utilizada α -lactoalbumina, fração protéica do soro de leite e a mistura dos oligopeptídeos produzidos através da hidrólise enzimática da α -lactoalbumina (Support, Produtos Nutricionais, Ltda).

Os ratos receberam dieta comercial até alcançarem cerca de 150g de massa corpórea, época na qual teve início o treinamento. Foi fornecida água *ad libitum* e dieta isoenergética, isoprotéica e isolipídica, a qual foi elaborada de acordo com as especificações do American Institute Nutrition, para ratos em crescimento (REEVES *et al.*, 1993). Os grupos experimentais receberam: (1) dieta elaborada com 16% de α -lactoalbumina, (2) hidrolisado de α -lactoalbumina na mesma concentração, e (3) grupo controle recebendo dieta com 16% de caseína como fonte protéica.

4.1.1.1-Composição das dietas

As formulações das dietas, bem como as misturas salina e vitamínica utilizadas encontram-se, respectivamente, nas tabelas A, B e C.

Tabela A-Composição das dietas (g/kg de dieta) utilizadas no ensaio.

Ingredientes	Dietas		
	Caseína	Lactoalbumina	Oligopeptídeos
Amido de milho	3505,35	3396,94	3396,94
Caseína	1696,29	-----	-----
Óleo vegetal	609,00	609,00	609,00
Fibra	435,00	435,00	435,00
Mistura mineral	304,50	304,50	304,50
Mistura vitamínica	87,00	87,00	87,00
L-cistina	26,10	-----	-----
Bitartarato de colina	21,75	21,75	21,75
Tert-butilhidroquinona	0,1235	0,1235	0,1235
Hidrolisado	-----	-----	1893,12
Lactoalbumina	-----	1893,12	-----
Amido dextrinizado	1137,16	1101,10	1101,10
Sacarose	877,71	850,57	850,57

Tabela B- Composição da mistura mineral utilizada na preparação das dietas.

Ingredientes	g/kg de mistura
Carbonato de cálcio, anidro	357,00
Fosfato de potássio, monobásico	196,00
Citrato de potássio, tripotássio monoidratado	70,78
Cloreto de sódio	74,00
Sulfato de potássio	46,60
Óxido de magnésio	24,00
Citrato férrico	6,06
Carbonato de zinco	1,65
Carbonato de manganês	0,63
Carbonato cúprico	0,30
Iodeto de potássio	0,01
Selenato de sódio, anidro	0,01
Paramolibdato de amônia, tetraidratado	0,00795
Metasilicato de sódio, nonoidratado	1,45
Sulfato de potássio e crômio dodecaidratado	0,275
Cloreto de lítio	0,0174
Ácido bórico	0,0815
Fluoreto de sódio	0,0635
Carbonato de níquel	0,0318
Vanadato de amônia	0,0066
Sacarose em pó	221,026

Tabela C-Composição da mistura vitamínica utilizada na preparação das dietas.

Vitamina	g/kg de mistura
Ácido nicotínico	3,000
Pantotenato de cálcio	1,600
Piridoxina-HCl	0,700
Tiamina-HCl	0,600
Riboflavina	0,600
Ácido fólico	0,200
D-biotina	0,020
Vitamina B ₁₂	2,500
Vitamina E	15,00
Vitamina A	0,800
Vitamina D ₃	0,850
Vitamina K	0,075
Sacarose em pó	974,655

4.1.2-Animais.

Foram utilizados ratos machos da linhagem Wistar recém-desmamados (21 dias) provenientes do Centro de Bioterismo da Universidade Estadual de Campinas. Os animais foram mantidos em gaiolas individuais. Os ratos permaneceram por uma semana no biotério do Departamento de Planejamento Alimentar e Nutrição (UNICAMP). Quando

os animais atingiram uma determinada massa corpórea, eles foram transportados para o biotério da UNESP-Rio Claro.

As condições ambientais do laboratório de ensaios biológicos foram controladas a fim de manter a temperatura em 24°C-28°C e períodos alternados de claro e escuro de 12 horas.

4.1.3-Grupos

Os animais, de acordo com seu nível de atividade (NA), foram divididos em grupos treinado (T) e sedentário (S). Dentro de cada grupo os ratos foram separados de acordo com as seguintes dietas: caseína (C), α -lactoalbumina (L), e hidrolisado de α -lactoalbumina (H).

4.1.3-Métodos

4.1.3.1- Determinação do ganho de massa corporal e ingestão alimentar

Durante o período experimental, os animais foram pesados uma vez por semana. A determinação da massa corporal, foi feita através da subtração da massa de cada animal obtido no último dia com o valor anterior.

A ingestão alimentar dos animais foi obtida pesando-se três vezes por semana os comedouros. Para a determinação da ingestão alimentar, foi

subtraído o valor obtido no último dia, do valor do dia anterior.

4.2-Procedimento experimental

O treinamento de natação foi constituído de 5 semanas de natação, sendo cinco dias por semana, com duração de 1 hora/dia. A primeira semana foi de adaptação, com aumento progressivo do tempo de treinamento, e da sobrecarga (até 5% da massa corporal). O horário de treinamento foi das 14:00-15:00h, em tanque 100cm x 70cm x 60cm com água à temperatura de aproximadamente 31°C.

Depois de cinco semanas de treinamento, tanto os ratos treinados como os sedentários foram submetidos a natação, com uma sobrecarga de 8% da massa corporal. Os ratos nadaram até a exaustão, a qual foi considerada como o momento em que os animais não conseguiam mais manter as narinas fora da água. Foi anotada a hora de entrada e saída dos animais na água, para calcular o tempo de duração do exercício. Logo após a exaustão, o animal foi sacrificado por decapitação para a retirada de amostras sangüíneas.

O sangue foi recolhido imediatamente após o sacrifício dos animais, colocado em tubos de vidro sem anticoagulante e logo após centrifugado a 3000 rpm por 15 minutos, sendo separado o soro para determinações de ácidos graxos livres, albumina e proteínas totais. Para a dosagem de glicose e lactato o sangue foi colocado em tubo eppendorf contendo 0.05 ml de

fluoreto de sódio.

Após o sacrifício, foi retirada uma porção do fígado (lobo inferior), através de laparotomia mediana. Em seguida foi extraída também uma porção do músculo *gastrocnêmio* (pata posterior).

4.3-Determinações bioquímicas

4.3.1-Glicose sérica

A concentração de glicose foi determinada através de um analisador eletroquímico de glicose e lactato (Yellow Springs Instruments 2300 START-YSI). O valor da concentração de glicose foi corrigido de acordo com a diluição.

4.3.2-Ácidos graxos livres séricos (AGL)

A concentração de AGL foi determinada adicionando-se em 0.3ml de soro, 7ml da mistura dos solventes clorofórmio, heptano e metanol, na proporção de 28:21:1, respectivamente, seguida de forte agitação e centrifugação a 700 xg por um período de 5 minutos. O sobrenadante foi aspirado e a ele adicionado uma solução de $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ a 0,05 M, trietanolamina a 0,10 M, NaOH a 0,035 N e NaCl 35% a pH de 8.1, seguido de nova agitação e centrifugação. A 3,0 ml de sobrenadante foram

adicionados 0,5 ml de solução de dietilditiocarbamato de sódio (1mg/ml de butanol secundário). A concentração de AGL foi medida a 435 nm, contra curva de calibração de ácido palmítico (REGOUW *et al.*, 1972).

4.3.3-Lactato

A concentração de lactato foi determinada através de um analisador eletroquímico de glicose e lactato (YSI).

A operação desse aparelho para determinação do ácido láctico baseia-se primeiramente na existência de um sensor de prova e três camadas de membranas. A camada média contém a enzima L-lactato oxidase (Lo_x), numa forma imobilizada.

A face da prova, coberta pela membrana, está situada em câmara contendo tampão, na qual é injetada a amostra. Uma parte do substrato difunde-se através da membrana e quando entra em contato com a enzima L-lactato oxidase, o mesmo é rapidamente oxidado, produzindo peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (reação 1). O peróxido de hidrogênio é então oxidado no ânodo de platina, produzindo elétrons (reação 2).



LO_x



ANODO DE PLATINA

Um equilíbrio dinâmico é encontrado quando a taxa de produção do peróxido de hidrogênio e a taxa na qual o mesmo deixa a camada que contém a enzima são equivalentes, fato indicado por um “steady state”. Nesse estado, a concentração de peróxido de hidrogênio detectada pelo eletrodo será proporcional à concentração de lactato em mM.

4.3.4-Proteínas séricas totais

A determinação da concentração sérica de proteína foi realizada através do método do reagente de biureto (sulfato de cobre a 10%), que utiliza a presença de Cu^{++} em meio alcalino reagindo com as ligações peptídicas das proteínas, dando origem a um complexo de cor violeta, cuja intensidade de coloração é proporcional à concentração de proteínas. Os valores das amostras foram conseguidos adicionando 0,1 ml de soro a 5,0 ml de reagente de biureto. As absorvâncias das amostras foram lidas em espectrofotômetro a 545 nm, e as concentrações obtidas contra curva de calibração de proteínas totais (HENRY, 1974).

4.3.5-Albumina sérica

A concentração da albumina sérica foi determinada através do método colorimétrico do verde de bromocresol. Foram adicionados a 0,02 ml de soro, 5,0 ml de reagente de cor, contendo solução de verde de bromocresol 0,60 mM, tampão succinato 0,1 M, surfactante não iônico 30%, em pH 4,0. As absorvâncias foram lidas a 630 nm e as concentrações determinadas contra curva de calibração de albumina, linear até a concentração de 6 g/l (DOUMAS *et al.*, 1971).

4.3.6-Glicogênio muscular

A determinação de glicogênio muscular foi realizada empregando o método de SJORGREEN, *et al.* (1938), para extração e de HASSID & ABRAHAMS (1957), para ensaio colorimétrico, consistindo de duas etapas:

1ª - Etapa: Extração do glicogênio

- 1- Homogeneização das amostras de tecido muscular (200g), que foram colocadas em tubos de ensaio de 15ml, com conteúdo de 1ml de KOH a 30%;
- 2- Banho-maria por 60 minutos, para digestão do tecido;
- 3- Adição de 0,1 ml de Na₂SO₄ saturado;

- 4- Adição de 3,5 ml de álcool etílico e agitação constante em água fervente, usando bastões de vidro, até o início da ebulição do álcool;
- 5- Centrifugação a 3000 rpm, durante 5 minutos, com retirada do sobrenadante ;
- 6- Dissolução do precipitado com 1ml de água destilada, previamente aquecida;
- 7- Adição de 3,5 ml de álcool etílico;
- 8- Centrifugação a 3000 rpm, seguida da retirada do sobrenadante;
- 9- Dissolução do precipitado em 5ml de água destilada.

2ª Etapa: Colorimetria

- 1- Adição de 0,2 ml das amostras e 0,8 ml de água destilada, em cada tubo;
- 2- Adição de 2ml da solução de antrona;
- 3- Colocadas as amostras em banho fervente durante 15 minutos;
- 4- Absorvância medida em espectrofotômetro a 490nm;
- 5- Foram utilizadas soluções de glicose para as curvas de calibração.

O cálculo da concentração de glicogênio foi realizado usando a seguinte equação:

$$CG(\text{mg}/100\text{mg}) = \frac{V_d}{m(\text{mg})} \times \frac{1}{V_a(\text{ml})} \times \alpha \times D.O \times 0,1$$

onde:

Vd = volume da diluição

m = massa tecidual

Va = volume da amostra

α = somatória (Σ) das concentrações dos padrões dividido pela Σ das concentrações das absorvância dos padrões;

DO = absorvância da amostra;

0,1 = fator de correção do cálculo

4.3.7-Glicogênio hepático

As diferenças na determinação do glicogênio no tecido hepático, em relação ao muscular, são as seguintes:

1-as frações obtidas do tecido hepático, pesaram ao redor de 500 mg, havendo portanto necessidade de digestão em 2 ml de solução de KOH a 30%

2- a precipitação do glicogênio hepático foi feita em 0,1 ml de Na_2SO_4 e 7 ml de etanol e, após a extração, o precipitado foi suspenso em 25 ml de água deionizada

4.3.8-Proteína muscular

O conteúdo de proteína muscular foi determinado através método colorimétrico de LOWRY *et al.*(1951), em amostras úmidas de *gastrocnêmio*, e os resultados expressos em mg de proteína por 100mg de

músculo. Duas etapas distintas levam a cor final azul da reação com a proteína:

- a) Reação da proteína com o cobre em solução alcalina
- b) Redução do reagente de Folin, originando um complexo de cor azul, cuja intensidade de coloração é proporcional ao conteúdo de proteína.

4.4- Caracterização da α -lactoalbumina e seu hidrolisado (oligopeptídeos)

4.4.1- Hidrólise com ácido clorídrico (HCl 6N)

Para análise, a α -lactoalbumina e seu hidrolisado enzimático foram submetidos a hidrólise com solução 6 mol/l de HCl, a 110°C, por vinte e duas horas. O ácido clorídrico foi evaporado em roto evaporador após filtração em vidro sintetizado. O conteúdo foi diluído e transferido para um balão com tampão citrato de sódio (pH =2,2) com quinze por cento de polietilenoglicol-400.

4.4.2- Aminograma

A composição qualitativa e quantitativa dos aminoácidos da α -lactoalbumina e os oligopeptídeos foi realizada no cromatógrafo Aminochrom II (automatic amino-acid analyser), pelo método de

SPACKMAN *et al.* (1958). O aparelho consiste de uma pré coluna para a lavagem dos tampões e uma coluna para a separação dos aminoácidos. Essas colunas são empacotadas com resina sulfonada de troca iônica “Durrum D.C.”. A detecção espectrofotométrica é feita em comprimentos de onda de 570 e 440 nm, na escala de 0,0 até 0,1 de absorbância. Foi usada uma solução de aminoácido padrão Sigma para calcular a constante em relação a concentração (altura do pico de absorção).

4.5-Tratamento estatístico

Os dados obtidos foram submetidos a análise de variância (ANOVA) através do teste F, e quando necessário, foi aplicado teste de Tukey. Estabeleceu-se o nível de significância de $p < 0,05$, a não ser em casos especificamente anotados.

5-RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1-Composição em Aminoácidos da Lactoalbumina e os oligopeptídeos

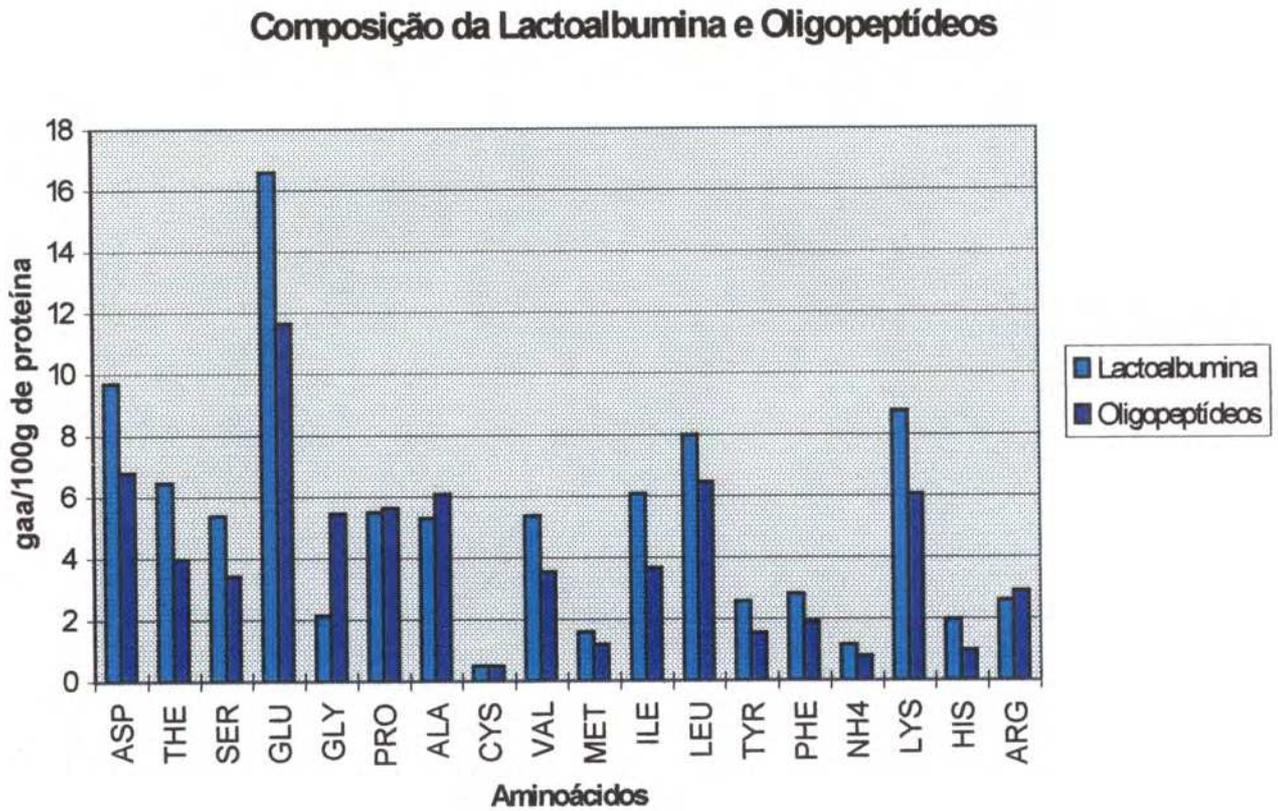


Figura 1- Perfis aminoacídicos da α -lactoalbumina e os oligopeptídeo.

A lactoalbumina é uma proteína do soro do leite. A designação alfa deriva do fato de ser a primeira banda do perfil de ultracentrifugação. Sua propriedade mais característica é a tendência de formar associações

poliméricas em pHs abaixo do seu ponto isoelétrico. No pH natural do leite, pH 6,6 e superiores a α -lactoalbumina aparece como monômero. A α -lactoalbumina desempenha um papel importante como proteína modificadora da UDP-galactose transferase em galactose sintetase nas glândulas mamárias.

Na Figura 1 aparecem os perfis aminoácidos da α -lactoalbumina e o hidrolisado enzimático α -lactoalbumina (oligopeptídeos). Observando as concentrações dos aminoácidos nota-se, com exceção da glicina, prolina, alanina e arginina, as variações foram consistentes com a premissa inicial de que as fontes protéicas das dietas L e H se diferenciam apenas na forma física/físico-química em que os aminoácidos se encontravam. Essas diferenças não foram devidas a qualquer adição de aminoácidos aos oligopeptídeos. O fato do ácido aspártico, treonina, serina, ácido glutâmico e lisina terem se apresentado em concentrações inferiores nos oligopeptídeos pode refletir perdas durante a hidrólise ácida por razão da maior exposição que os mesmos tiveram ao hidrolizante; isto é, os oligopeptídeos foram submetidos a condições relativamente mais drásticas do que a proteína inteira. As diferenças encontradas para o conjunto prolina, glicina, alanina e arginina, entretanto, podem ser devidas a erro de integração no aminograma que é comum de ocorrer por falta de resolução cromatográfica.

5.2-Natação

No presente estudo o treinamento utilizado foi a natação. Como citado por AZEVEDO (1994), a natação é considerada uma modalidade de exercício bastante utilizada para estudos da área.

Para diminuir o estresse causado pela estranheza ao meio líquido, que poderia alterar o metabolismo dos animais, os mesmos passaram por um período prévio de adaptação experimental que durou cinco dias.

Outro fator que pode ser considerado como fonte de estresses é a diferença de temperatura entre a água e o ambiente aéreo. Para evitar esse tipo de estresse no animal, a água foi aquecida e mantida ao redor de 31°C.

A sobrecarga de 5% da massa corporal fez com que os animais movimentassem os membros posteriores com maior intensidade do que o normal. O teste de exaustão foi realizado usando-se a carga de 8% da massa corporal, para que os ratos reduzissem os tempos de chegada à exaustão para valores mais manejáveis. Considerando todos esses cuidados citados, parece que o treinamento de natação foi bastante adequado para o presente experimento.

5.3-Determinações plasmáticas

A Tabela 1 mostra os níveis finais de glicose, ácidos graxos livres, lactato, albumina e proteínas totais séricas para grupos de ratos treinados e sedentários. De um modo geral, foi observado que o grupo de animais submetidos ao treinamento físico apresentou concentrações menores do que o grupo sedentário em todos os índices, (com exceção dos ácidos graxos livres, AGL), embora tais diferenças não tenham sido sempre estatisticamente significativas, ao nível de significância de 5%. As concentrações séricas de glicose, lactato, albumina e proteínas totais séricas foram mais baixas nos animais treinados do que nos sedentários. Como era de se esperar, os animais treinados permaneceram tempos consideravelmente maiores na execução do exercício (médias de 152 ± 8 min para os treinados) do que os sedentários (média de 48 ± 10 min), situação que por si só, é capaz de justificar as concentrações séricas mais baixas para glicose, lactato, albumina e proteínas séricas totais.

Tabela 1-Parâmetros plasmáticos dos grupos de ratos treinados (T) e sedentários (S), que receberam as seguintes dietas: α -lactoalbumina (L), caseína (C) e oligopeptídeos (H).

	Grupo de Ratos treinados*			Grupo de Ratos sedentários*		
	dieta L	dieta C	dieta H	dieta L	dieta C	dieta H
Glicemia (mg/100ml)	32,31b (\pm 1,5)	28,90b (\pm 8,1)	56,05a (\pm 11,9)	48,49ab (\pm 19,5)	37,22b (\pm 4,4)	78,13a (\pm 30,8)
AGL (mEq/l)	0,54a (\pm 0,1)	0,66a (\pm 0,2)	0,60a (\pm 0,1)	0,68ab (\pm 0,1)	0,81a (\pm 0,1)	0,57b (\pm 0,1)
Lactato (nmol/l)	4,40b (\pm 1,4)	8,70a (\pm 0,1)	5,40ab (\pm 1,7)	15,31a (\pm 2,9)	9,60b (\pm 3,2)	10,90ab (\pm 2,2)
Albumina (g/dl)	2,1b (\pm 2,2)	2,2ab (\pm 0,1)	3,8a (\pm 1,8)	2,3b (\pm 0,05)	2,4b (\pm 0,1)	3,5a (\pm 0,7)
Proteínas séricas totais (g/dl)	7,0a (\pm 3,5)	7,1a (\pm 0,5)	7,0a (\pm 0,08)	7,3a (\pm 0,2)	7,2a (\pm 0,2)	8,4a (\pm 2,7)

*Em cada grupo, médias mostrando as mesmas letras não diferem entre si significativamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Os valores são médias de 5 animais por tratamento \pm DP.

5.3.1-Glicose sérica

A Análise de variância univariada (ANOVA-Tabela 3) mostrou que tanto o treinamento como o tipo de dieta influenciaram significativamente

($p < 0,05$) no nível de glicemia dos ratos. A ANOVA mostrou também que a interação dieta X treinamento não apresentou efeito significativo sobre a glicemia. Em cada dieta, o nível de glicemia foi significativamente ($p < 0,05$) maior nos ratos sedentários do que nos ratos treinados (Tabela 1, Figura 3). Pelo protocolo experimental, os ratos sedentários chegaram ao ponto de exaustão mais rapidamente que os treinados, o que explica os índices glicêmicos superiores no momento da retirada da água. Já os maiores índices glicêmicos de 77,1 e 92,1mg/100ml para ratos treinados e sedentários respectivamente, relatados por GOBATTO (1993), não poderiam ser considerados como conflitantes com os nossos, pois o protocolo experimental utilizado pelo autor não incluía a chegada ao ponto de exaustão. Isto significa que, se no nosso experimento o exercício tivesse sido finalizado antes da exaustão, os níveis glicêmicos dos animais treinados poderiam ter sido superiores aos dos sedentários.

Tanto no grupo treinado como no sedentário, os ratos que consumiram a dieta H, apresentaram maiores índices glicêmicos do que os alimentados com a lactoalbumina intacta ou a caseína, o que indica que o grau de hidrólise com que a proteína foi apresentada ao animal influenciou significativamente na manutenção da glicemia ao longo da prova. O fato de termos encontrado no grupo sedentário, que a diferença entre a média de 78,1 (SH) e 48,5 (SL) não foi significativa, pode estar relacionado com a alta variação individual, a qual se evidenciou mais com o regime sedentário do que com o regime de treino (desvios-padrão, Tabela 1).

A glicemia durante o exercício prolongado é mantida principalmente pela gliconeogênese que utiliza os carbonos de alguns aminoácidos para formar glicose prevenindo a hipoglicemia que é considerada uma das causas da exaustão (COSTILL *et al.*, 1977). Segundo ADIBI (1976) durante o jejum prolongado que é similar às condições encontradas durante o exercício prolongado, ocorre um aumento na gliconeogênese. Sugerem os nossos resultados que a absorção rápida dos aminoácidos do hidrolisado parcial (oligopeptídeos) bem pode estimular o processo de gliconeogênese ou poupar as reservas de glicose da degradação oxidativa.

Independente do treinamento, os ratos com as dietas C e L, mostraram níveis glicêmicos similares (Tabela 1, Figura 1). Entretanto nota-se, que a lactoalbumina manteve os níveis de glicose ligeiramente mais elevados do que a caseína, o que pode ser devido a características intrínsecas da composição de aminoácidos de cada proteína.

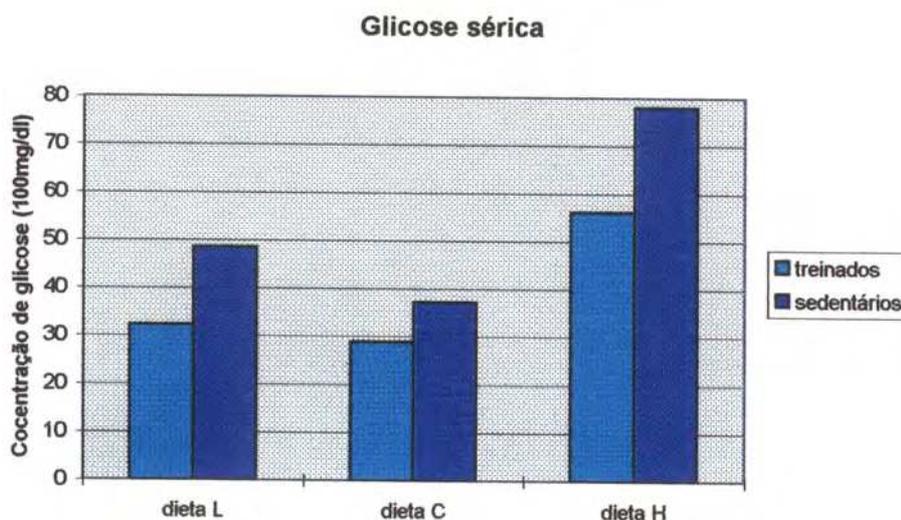


Figura 2-Concentração de glicose (mg/dl) em soro de ratos treinados e sedentários, que receberam a dieta L, dieta C e dieta H. Os valores representam médias de 5 animais por tratamento.

5.3.2-Ácidos graxos livres (AGL)

A concentração plasmática de AGL (0,54 a 0,81 meq/l) foram semelhantes para as três dietas, tanto dentro do grupo treinado como do grupo sedentário, como mostram as Tabelas 1 e 4 (Anexo NA_p = 0,12) e a figura 3. Esse fato revela que nem a dieta nem o nível de atividade influenciaram significativamente nos níveis plasmáticos de AGL, ressaltando a diferença de chegada a exaustão, uma vez que os AGL, segundo WAHREN (1979), são os principais combustíveis utilizados no exercício prolongado. Segundo COSTILL *et al.* (1977), a concentração plasmática de AGL

aumentada, diminui a utilização do glicogênio, enquanto que a diminuição de AGL, conduz à depleção do glicogênio, sendo esta uma das principais causas da exaustão.

O tipo de proteína das dietas por sua vez, também não influenciou nos níveis plasmáticos de AGL. No grupo sedentário entretanto, os ratos que consumiram a dieta C (caseína), apresentaram concentrações mais elevadas de AGL, diferença significativa apenas a 7,7% (Tabela 4, anexo).

O trabalho mais relevante encontrado na literatura sobre a influência dos AGL plasmático no exercício foi o de HICKSON *et al.* (1977). Esses autores determinaram que, o fornecimento de uma fonte lipídica a ratos submetidos ao exercício exaustivo, produziu o adiamento do ponto de exaustão devido ao deslocamento do metabolismo para o dispêndio seletivo de lípidos, com conseqüente poupança do glicogênio muscular e hepático. O resultado de suplementar uma ração comercial com óleo vegetal, além de adiar o desenvolvimento da exaustão, foi o de diminuir as taxas de depleção do glicogênio e aumentar as concentrações plasmáticas de glicerol e β -hidroxibutirato. O valor de 0,8 meq/l de AGL dos animais sedentários que consumiram a dieta C não tem uma explicação aparente até o momento. O mesmo não poderia ser interpretado como conseqüência do dispêndio seletivo de lípidos, pois todas as dietas do experimento foram isolipídicas e, em adição, os ratos na dieta C não mostraram reservas de glicogênio diferentes da dos outros ratos.

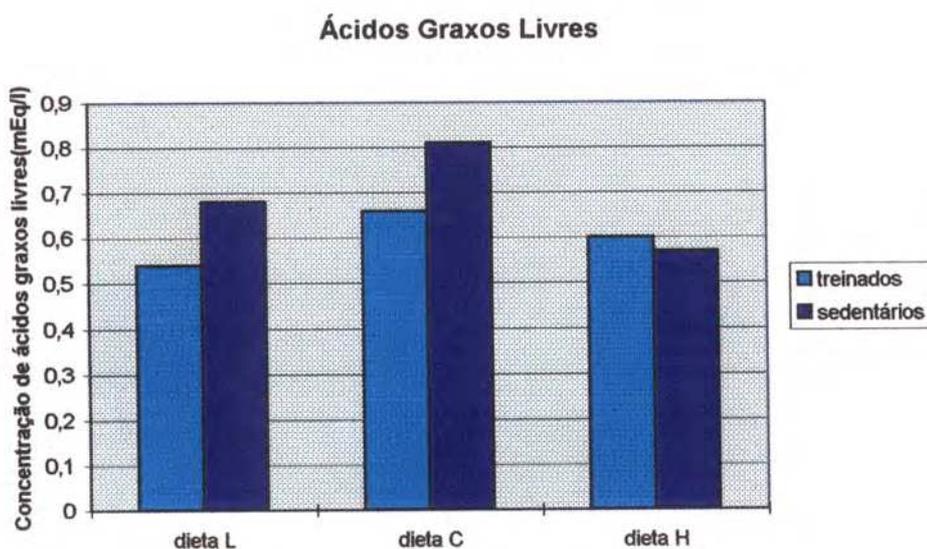


Figura 3-Concentração de ácidos graxos livres (mEq/l) em soro de ratos treinados e sedentários, que receberam a dieta L, dieta C e dieta H. Os valores representam médias de 5 animais por tratamento.

5.3.3-Lactato

Os resultados da Tabela 5 (Anexo) indicam que o nível de atividade (NA) influenciou significativamente ($p < 0,05$) sobre o nível de lactato no ponto de exaustão dos dois grupos, porém esse efeito variou em função do tipo de dieta, havendo uma interação significativa dieta X NA. Quando o efeito das dietas sobre a concentração de lactato foi estudada de forma independente para os ratos treinados e sedentários (Tabela 1), o valor de lactato no grupo treinado apresentou diferença significativa ($p < 0,05$) entre os ratos

que receberam as dietas C e L. A concentração de lactato foi maior para os ratos que receberam a dieta C. Já entre os ratos sedentários, houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre aqueles que receberam as dietas C e L, sendo a concentração de lactato maior para os ratos que consumiram a dieta L.

O lactato é um importante metabólito formado durante o exercício prolongado. FOX *et al.* (1991), relatam que o treinamento físico submáximo diminui o acúmulo de lactato em homens submetidos a exercício, em relação a sedentários. Em resposta ao treinamento físico também ocorre uma maior utilização dos AGL, levando a uma menor utilização do glicogênio e conseqüentemente uma menor concentração de lactato sanguíneo (GOLLNICK *et al.*, 1985).

FAVIER *et al.* (1986), relataram que no músculo de ratos treinados e sedentários, ocorre uma adaptação que resulta em menor produção de lactato pelo músculo durante a atividade de contração.

Recentemente, ROTH (1991), estudando ratos submetidos a diferentes treinamentos de velocidade e resistência muscular, observou aumento da atividade de transporte de lactato do músculo para o sangue.

Observou-se pela Tabela 1, que os resultados obtidos estão de acordo com o relatado por FAVIER *et al.* (1986), onde os ratos treinados apresentaram menores índices de lactato. Uma importante observação que deve ser feita, é que os ratos sedentários apresentaram um nível elevado de lactato sanguíneo, mesmo dentro do curto período de exercício, tendo

possivelmente determinado a exaustão desses animais. Segundo MONTGOMERY (1990), a fadiga oriunda de exercícios é resultado do aumento da concentração de íons hidrogênio. Um aumento na quantidade de H^+ intracelular pode alterar a degradação da glicose, através da inibição da atividade de enzimas como a lactatodesidrogenase e fosfofrutoquinase. A capacidade de contração muscular para o trabalho diminui quando a concentração de lactato é elevada no exercício máximo.

O aparecimento da acidose diminui a força de contração muscular por alteração da condutividade elétrica da membrana, interferindo na liberação de cálcio do retículo sarcoplasmático (MONTGOMERY, 1990).

Os resultados obtidos também mostram que os ratos do grupo treinado terminaram com médias de lactato mais baixas do que os sedentários, indicando que possivelmente o lactato foi utilizado para a produção de glicose através do ciclo de Cori. Segundo BROOKS (1985), durante o exercício, uma pequena fração (aproximadamente 20%) de lactato é convertida em glicose e mais de 75% removida pelos processos oxidativos.

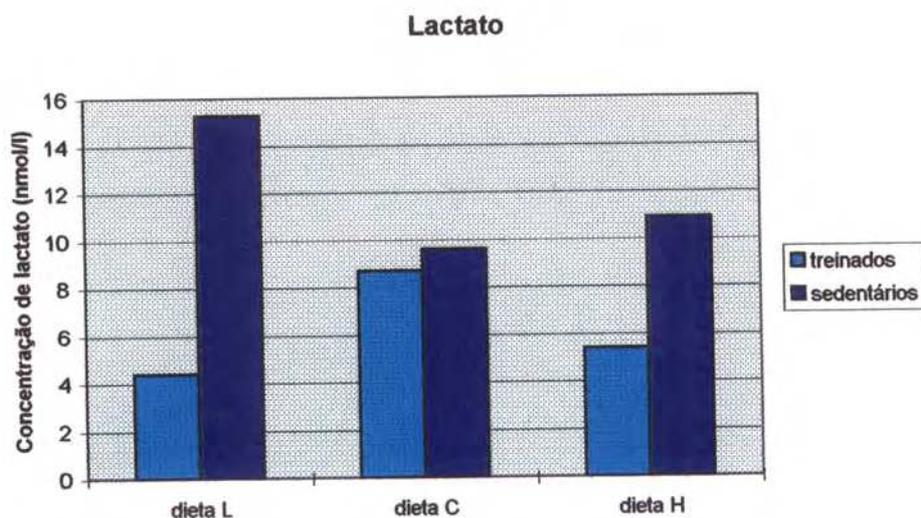


Figura4-Concentração de Lactato (nmol/l) sérico de ratos treinados e sedentários, que receberam a dieta L, dieta C e dieta H. Os valores representam médias de 5 animais por tratamento.

5.3.4- Proteínas totais e Albumina sérica

O efeito das dietas sobre as proteínas totais de soro de ratos treinados e sedentários estão expostos na Tabela 1 e Figura 6. Os valores de proteínas totais séricas encontrados foram da ordem de magnitude semelhantes aos dados da literatura (7,2mg/dl). A concentração de proteínas totais séricas não apresentou variação significativa (Tabela 8, Anexo), seja em função do NA, fenômeno que também foi observado por GOBATTO (1993) ou em função do tipo de dieta. O NA não apresentou nenhum efeito notável na concentração de albumina

sérica (figura 5).Entretanto, o tipo de dieta influiu significativamente nesse índice (Tabela 6, Anexo). Nos dois grupos, a dieta H promoveu a manutenção de níveis de albumina sérica, significativamente maiores ($p < 0,05$) não havendo diferença entre as outras dietas (Tabela 1). O valor da albumina sérica, segundo dados da literatura deve ser consistente com o valor de proteínas totais. Neste experimento o fato da concentração de albumina sérica dos ratos que consumiram a dieta H se encontrar significativamente mais elevada, apenas demonstra uma vantagem da proteína hidrolisada em relação às outras. Deve ser lembrado que os trabalhos existentes se compara apenas o nível de treinamento e não o tipo de proteínas que perfazem a dieta.

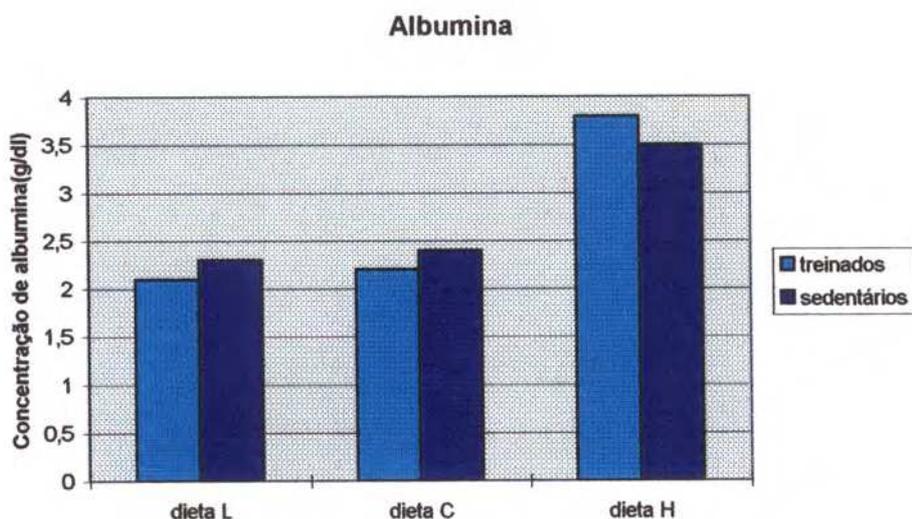


Figura 5-Concentração albumina (g/dl) em soro de ratos treinados e sedentários, que receberam a dieta L, dieta C e dieta H. Os valores representam médias de 5 animais por tratamento.

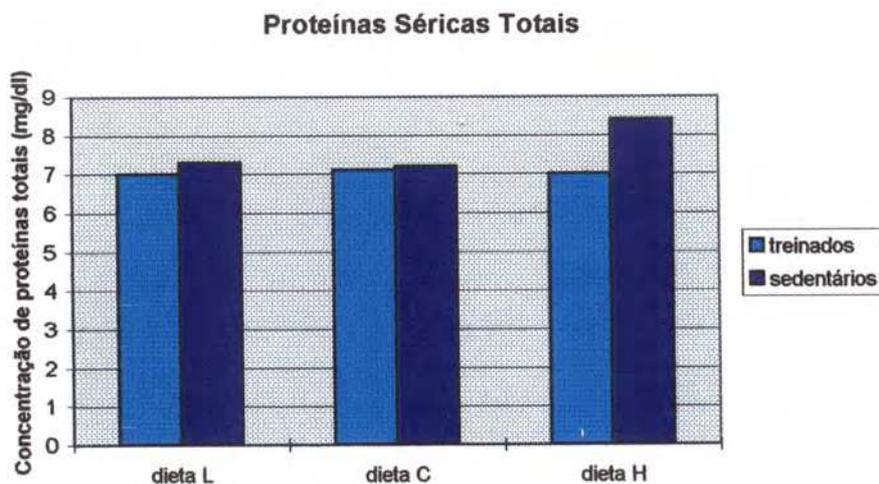


Figura 6-Concentração de proteínas séricas totais (g/dl) em soro de ratos treinados e sedentários, que receberam a dieta L, dieta C e dieta H. Os valores representam médias de 5 animais por tratamento.

Tabela 2-Conteúdo, no ponto de exaustão, de glicogênio muscular (gastrocnêmio) glicogênio hepático e proteína muscular dos grupos de ratos treinados(T) e sedentários (S), que receberam as seguintes dietas: α -lactoalbumina (L), caseína (C) e oligopeptídeos (H).

	Grupo de Ratos treinados*			Grupo de Ratos sedentários*		
	dieta L	dieta C	dieta H	dieta L	dieta C	dieta H
Glicogênio muscular (mg/100mg)	0,06b ($\pm 0,02$)	0,06b ($\pm 0,02$)	0,21a ($\pm 0,14$)	0,09ab ($\pm 0,04$)	0,06b ($\pm 0,01$)	0,14a ($\pm 0,04$)
Glicogênio hepático (mg/100mg)	0,24a ($\pm 0,04$)	0,23a ($\pm 0,06$)	0,31a ($\pm 0,04$)	0,24a ($\pm 0,04$)	0,21a ($\pm 0,06$)	0,22a ($\pm 0,09$)
Proteína muscular (mg/100mg)	1,44a ($\pm 0,2$)	1,76a ($\pm 0,47$)	2,08a ($\pm 0,52$)	1,48a ($\pm 0,29$)	1,57a ($\pm 0,39$)	1,39 a ($\pm 0,08$)

**Em cada grupo, médias mostrando letras em comum não diferem entre si significativamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Os valores são médias de 5 animais por tratamento $\pm DP$.*

5.4-Determinações teciduais

5.4.1 Glicogênio muscular e hepático

A capacidade aeróbica ou de resistência do organismo está diretamente relacionada com a concentração de glicogênio muscular. A depleção muito intensa do glicogênio muscular pode levar à hipoglicemia, durante o exercício prolongado.

Como pode ser observado na Tabela 2 (anexo) o NA não apresentou efeito significativo no conteúdo de glicogênio muscular dos ratos. O treinamento físico aumenta a eficiência do músculo em utilizar a glicose proveniente da hidrólise do glicogênio e também eleva a quantidade de glicogênio armazenada no músculo; aumento que pode ser de até duas vezes. O treinamento aumenta a atividade da enzima glicogênio sintetase, que é responsável pela síntese do glicogênio. Segundo KARLSSON *et al.* (1974), ratos treinados apresentam velocidade reduzida de utilização do glicogênio muscular, quando comparados aos ratos sedentários. Neste tipo de protocolo utilizando a exaustão, é comum os animais treinados e sedentários apresentarem no final conteúdos semelhantes de glicogênio muscular, como foi constatado no nosso trabalho, onde os animais treinados nadaram mais tempo que os sedentários (Figura 7).

A depleção do glicogênio depende da intensidade e duração do exercício imposto. COSTILL (1977), coloca que a depleção do glicogênio

muscular é um dos principais fatores limitantes do exercício prolongado.

O efeito das dietas sobre o teor de glicogênio muscular no ponto de exaustão de ratos treinados e sedentários está indicado na Tabela 8 (Anexo). Conforme pode ser visualizado, houve diferença significativa ($p < 0,05$) no conteúdo de glicogênio muscular de ambos os grupos em função do tipo de dieta. Nos dois grupos, treinados e sedentários, a dieta H promoveu significativamente ($p < 0,05$) maiores estoques de glicogênio muscular (Tabela 2 e Figura 7). Não houve diferença significativa entre as outras dietas com relação ao glicogênio muscular. Esses resultados são consistentes com as conclusões de GOLLNICK (1985), que associam a concentração de glicogênio muscular com a dieta e o exercício, ou combinação dos dois.

HERMANSEN *et al.* (1967), demonstraram que é possível, através da manipulação alimentar associada à atividade física, aumentar a quantidade de glicogênio acumulada no músculo esquelético de homens. Essa manipulação consistiu no uso de dietas hiperglicídicas para elevar o conteúdo de glicogênio.

As dietas utilizadas em nosso experimento eram isoglicídicas, não justificando-se com isso a maior concentração de glicogênio encontrada no músculo do rato que recebeu a dieta H. Esse aumento na concentração de glicogênio muscular pode ter sido devido a uma gliconeogênese hepática aumentada, que pouparia o glicogênio muscular e liberaria mais glicose para o plasma.

Como mostra a Tabela 9 (Anexo), não houve diferença significativa ($p < 0,05$) no conteúdo de glicogênio hepático em função da dieta. Com isto torna-se difícil a interpretação destes resultados, uma vez que as reservas de glicogênio muscular e hepático são dinamicamente intercambiáveis e os valores de glicogênio muscular e glicose sérica foram maiores para os ratos que receberam a dieta H, mas o conteúdo de glicogênio hepático foi semelhante para todas as dietas. Embora os ratos treinados que receberam a dieta H, apresentassem tendência a maiores valores em relação aos outros, apesar dessa diferença não ter sido estatisticamente significativa (Figura 8).

Em um estudo realizado por GOBATTO (1993), os ratos treinados apresentaram uma maior concentração de glicogênio hepático em relação aos animais do grupo sedentário. Neste modelo experimental, o conteúdo de glicogênio hepático não apresentou diferença entre os grupos treinado e sedentário, muito provavelmente pela diferença entre os tempos de chegada à exaustão.

Glicogênio Muscular

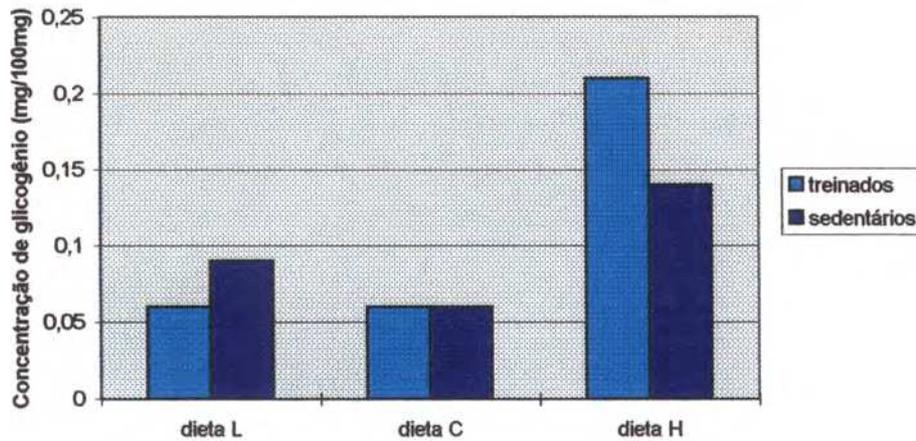


Figura 7-Conteúdo de glicogênio muscular (mg/100mg) de ratos treinados e sedentários, que receberam a dieta L, dieta C e dieta H. Os valores representam médias de 5 animais por tratamento.

Glicogênio Hepático

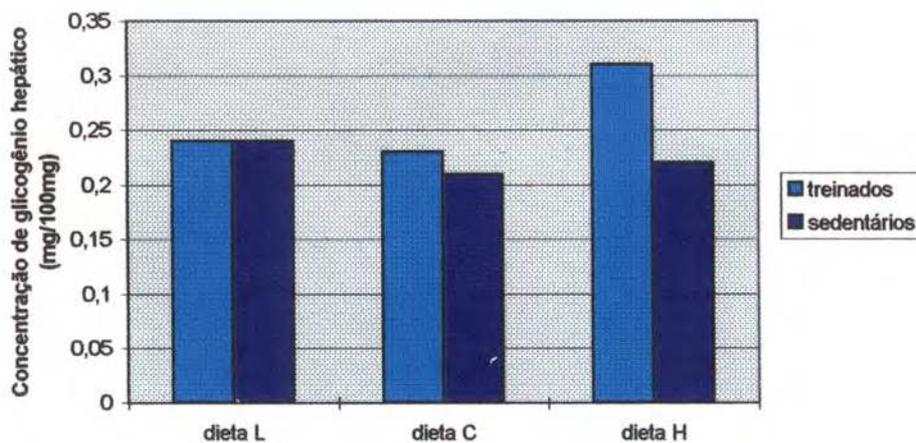


Figura 8-Conteúdo de glicogênio hepático (mg/100mg) em ratos treinados e sedentários, que receberam a dieta L, dieta C e dieta H. Os valores representam médias de 5 animais por tratamento.

5.4.2-Proteína muscular

A análise de variância do parâmetro proteína muscular (fonte de variação: dieta, NA e dieta X NA) revela que houve diferença significativa ($p < 0,05$) no conteúdo muscular de proteínas apenas em função do NA. Como era esperado, os maiores níveis de proteína foram encontrados no músculo dos ratos treinados (Tabela 2). Esse maior teor protéico pode ser explicado puramente na base do menor conteúdo de gordura do músculo exercitado.

Apesar da diferença ter sido significativa apenas para $p < 0,10$ (Tabela 10, Anexo), os ratos treinados que receberam a dieta H, apresentaram tendência a maiores valores. Como as dietas eram isoprotéicas, mas a forma da proteína era diferente, pode não ter somente maior acúmulo de glicogênio muscular como também economia da proteína sarcométrica. Para comprovação desta hipótese, entretanto, seria necessário determinação dos teores de gordura muscular e massa total do músculo.

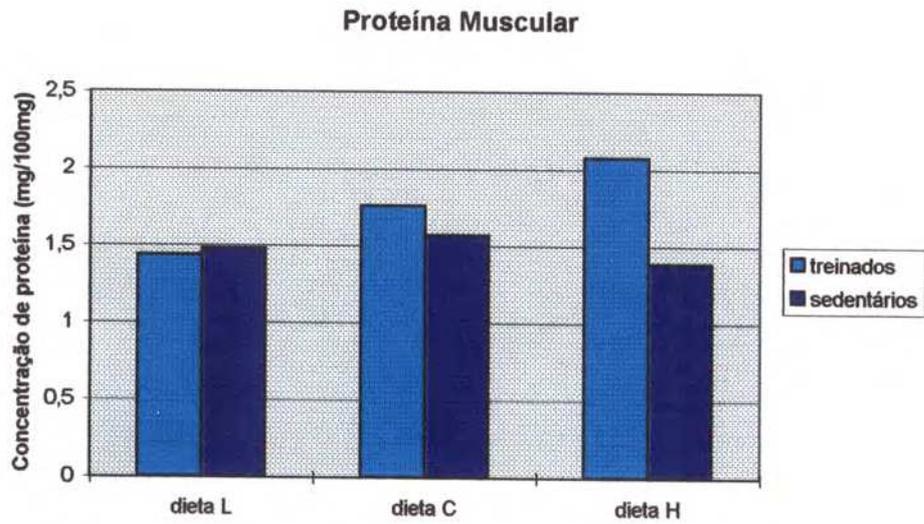


Figura 9-Conteúdo de proteína muscular (mg/100mg) de ratos treinados e sedentários, que receberam a dieta L, dieta C e dieta H. Os valores representam médias de 5 animais por tratamento.

6-CONCLUSÃO

De acordo com a metodologia empregada, os resultados obtidos permitem concluir que:

-O treinamento dos animais promoveu alterações metabólicas adaptativas ao exercício, as quais permitiram aos ratos treinados demorarem mais tempo antes de atingir o ponto de exaustão.

-Os ratos que consumiram a dieta H, tanto treinados como sedentários, finalizaram o exercício com maiores índices de glicose sérica, albumina sérica e glicogênio muscular. Apesar de não se obter uma melhor resistência ao esforço com esses parâmetros, os níveis mais elevados, conferem uma vantagem à forma hidrolisada da proteína, pois os efeitos neurológicos e físicos decorrentes dos mesmo são imediatos.

-Outros experimentos precisam ser realizados para poder confirmar se os oligopeptídeos são mais eficazes que as proteínas intactas quando oferecidas para ratos submetidos ao exercício físico. Contudo, são claras algumas vantagens nutricionais/fisiológicas, além das tecnológicas para dietas que contenham proteínas hidrolisadas, como fonte protéico-energética.

-Na base dos resultados aqui apresentados, cabe também sugerir a execução de futuras pesquisas para a questões como concentração ideal do hidrolisado na dieta e período de treinamento mínimo para obtenção de resultados.

7-REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ADIBI, S. A. Intestinal transport of dipeptides in man: relative importance of hydrolysis and intact absorption. **Jounal Clinical Investigation**, New York, v.50, n.11 p.234-239, 1971.
2. ADIBI, S. A. Metabolism of branched-chain amino acids in altered nutrition. **Metabolisms**, v.25, n.11, p.1287-1302, 1976.
3. ADIBI, S. A. Roles of branched-chain amino acids in metabolic regulation. **Journal Laboratory Clinical of Medicine**, St Louis, v.95, n.4, p.475-484, 1980.
4. AZEVEDO, J. R. M. Determinação de parâmetros bioquímicos em ratos sedentários e treinados, durante e após o exercício agudo de natação, Campinas, 1994, p.172. Dissertação (Doutor em Ciências-Fisiologia). Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas.
5. BAGBY, G. J.; GREEN, H. J.; KATSUTA, S. ; GOLLNICK, P. D. Glycogen depletion in exercising rats infused with glucose, lactate, or piruvate. **Journal of Applied Physiology**, Bethesda, v.45, n.3, p.425-429, 1978.

6. BIELINSKE, R.; SCHUTZ, Y.; JEQUIER, E. Energy metabolism during the post exercise recovery in man. **American Journal of Clinical Nutrition**, New York, v.42, p.69-82, 1985.
7. BOOTH, F. W.; WATSON, P. A. Control of adaptation in protein levels in response to exercise. **Federal Proceedings**, Bethesda, v.44, p.2293-2300, 1985.
8. BROOKS, G. A. Amino acid and protein metabolism during exercise and recovery. **Medical and Sciences in Sports and Exercise**, Madison, v.19, n.5, p.150-156, 1987.
9. BROOKS, G. A. The lactate shuttle during exercise and recovery. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, Madison, v.18, p.360-368, 1986.
10. BRUNNER, J. R. Milk protein. In Food protein .Avi Westport, 1977, p.175-208.
11. BURKE, L. M.; READ, R. S. D. Dietary supplements in sport. **The Physician and Sports Medicine**, Minneapolis, v.15, n.1, p.43-65, 1993.
12. BURKE, L. M.; READ, R. S. D. Sports nutrition approaching the nineties. **The Physican and Sports Medicine**, Minneapolis, v.8, n.2, p.80-100, 1989.

3. BURSE, M. G.; REID S. S. A. A possible regulator of protein turnover in muscle. **Journal of Clinical Investigation**, New York, v.56, p.1250-1261, 1975.
14. BUSKIRK, E. R. Exercise In Present knowledge in nutrition. 6.ed. Washinton, 1990.
15. CAHILL, G. E. Starvation in man. **New England Journal of Med** , Boston, v.19, p.668-675, 1970.
16. COSTILL, D. L.; COYLE, E.; DALSKY, G.; EVANS, W.; FINK, W.; HOOPES, D. Effects of elevated plasma FFA and insulin on muscle glycogen usage during exercise. **Journal of Applied Physiology**, Bestheda, v.43, p695-699, 1977.
17. COSTILL, D. L. Carboydrate nutrition before, during, and after exercise. **Federal Proceidings**, Bethesda, v.44, n.2, p.364-372, 1985.
18. COYLE, E. F.; COGGAN, A R.; HEMMERT, M. K.; IVY, J. L. Muscle glicogen utilization during prolonged strenuous exercise when fed carboydrate. **Journal of Applied Physiology**, Bestheda, v.61, n.1 p165-172, 1986.

19. DEUSTER, P. A.; KYLE, S. B.; MOSER, P. B.; VEGERSKY, R. A.; SINGH, A.; SCHOOMAKER, E. B. Nutritional survey of highly trained women runners. **American Journal of Clinical Nutrition**, New York, v.44, p.954-962, 1986.
20. DEVLIN, J. T.; BRODSKY, I.; SCRIMGEOUR, A.; FULLER, S.; BIER, D. M. Amino acid metabolism after intense exercise. **American Journal of Physiology**, Bethesda, v.258, p258-262, 1990
21. DOHM, G. L.; KASPEREK, G. J.; TAPSCOTT, E. B.; BARAKAT, G. A. Protein metabolism during endurance exercise. **Federal Proceedings**, Bethesda, vol.44, n.2 p.348-52, 1985.
22. DOHM, G. L.; WILLIAMS, R. T.; KASPEREK, G. J.; RYI, A. M. Increased excretion of urea and n-methylhistidine by rats and humans after a bout of exercise. **Journal of Applied Physiology**, Bethesda, v.52, p27-31, 1982.
23. DOUMAS, B.T.; WATSON, W. A.; BIGGS, H. G. Albumin standards and the measurements of serum albumin with bromocresol green. **Clinical Chimica Acta**, Amsterdam, v.31, p.87-96, 1971.

24. DURNIN, J. U. G. A. Muscle in sports medicine-nutrition and muscular performance. **International Journal of Sports Medicine**, Stuttgart, v. 3, p 52-57, 1982.
25. FAVIER, R. J.; CONSTABLE, S. H.; CHEN, M.; HOLLOSZY, J. O. Endurance exercise training reduces lactate production. **Journal of Applied Physiology**, Bethesda, v.61, n.3, p.887-889, 1986.
26. FELIG, P.; WAHREN, J. Amino acid metabolism in exercising man. **Journal Clinical Investigation**, New York, v.50, p.2703-2714, 1971.
27. FOX, E. L.; BOWERS, R. W.; FOSS, M. L. Bases Fisiológicas da educação física e dos desportos. 4. ed , Rio de Janeiro: Guanabara, 1991. p. 518.
28. FROKJAER, S. Use of hydrolysates for protein supplementation. **Food Technology**, Chicago, p.86-88, oct. 1994.
29. GOBATTO, A. C. Alterações metabólicas decorrentes do treinamento físico em ratos previamente desnutridos e recuperados. Campinas, 1993, p.122. Dissertação (Mestrado em Ciências-Fisiologia). Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas.

30. GOLLNICK, P. D.; BAYLY, W. M.; HODGSON, D. R. Exercise intensity, training, diet, and lactate concentration in muscle and blood. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, Madison, v.18, n.3 p.334-340, 1986.
31. GOLLNICK, P. D. Metabolism of substrates: energy substrate metabolism during exercise and modified by training. **Federal Proceedings**, Bethesda, v.44, n.2, p.353-357, 1985.
32. GORANZON, H.; FORSUM, E. Effect of reduced energy intake versus increased physical activity on the outcome of nitrogen balance experiments in man. **American Journal Clinical Nutrition**, New York, v.41, p.919-928, 1985.
33. GRANDJEAN, A. C. Macronutrient intake of US athletes compared with the general population and recommendations made for athletes. **American Journal of Clinical Nutrition**, New York, v.49, p.1070-1076, 1989.
34. GUYTON, A. C. Fisiologia humana e mecanismos das doenças. 4 .ed, Rio de Janeiro: Guanabara, 1989.
35. HARPER, H. A.; RODWELL, V. W.; MAVES, P. A. Manual de química fisiológica. 5. ed São Paulo, 1990.

- 36.HASSID, D. A.; ABRAHAM, S. Chemical Procedures for analysis of polysaccharides. **Methods of Enzymology**, New York, v.3, p.34-36, 1957.
- 37.HENDERSON, S .A.; BLACK, A .L.; BROOKS, G. A. Leucine turnover and oxidation in trained rats during exercise. **American Journal of Physiology**, Baltimore, v.249, p.137-144, 1985.
- 38.HENRY, R. J. Clinical chemistry principles and techniques. 2.ed . Hargeston: Harper & How, 1974.
- 39.HERMANSEN, L.; HULTMAN, E.; SALTIN, B. Muscle glicogen during prolonged severe exercise. **Acta Physiologica Scandinavica**, Stockholm, v.71, p.129-139, 1967.
- 40.HICKSON, R. C.; RENNIE, M. J.; CONLEE, R .K.; WINDER, W. W.; HOLLOSZY, J.O. Effects of increased plasma fatty acids on glycogen utilization and endurance. **Journal of Applied Physiology**, Bestheda, v.43, n.5, p.829-833, 1977.
- 41.HOOD, D. A.; TEYUNG, R. L. Effect of α -ketoacid dehydrogenase phosphorylation on branched-chain aminoacid metabolism in muscle. **American Journal of Physiology**, Baltimore, v.23 p.628-634, 1991.

42. HOUMARD, J. A.; HICKEY, M. S.; TYNDALL, G. L.; GAVIGAN, K. E.; DOHM, L. Seven days of exercise increase GLUT-4 protein content in human skeletal muscle. **Journal of Applied Physiology**, Bethesda, v.79, n.6, p.1936-1938, 1995.
43. HUFFMAN, L. H. Processing whey protein for use as a food ingredient. **Food Technology**, Chicago, p. 49-52, feb, 1996.
44. IVEY, P. A.; GAESSER, G. A. Postexercise muscle and liver glycogen metabolism in male and female rats. **Journal of Applied Physiology**, Bethesda, v.62, p.1250-1254, 1987.
45. KARLSSON, J.; NORDESJO, L. O.; SALTIN, B. Muscle glycogen utilization during exercise after physical training. **Acta Physiologica Scandinavica**, Stockholm, v.90, p.210-217.
46. KATCH, F. I.; McARDLE, W. D. Introduction to nutrition, exercise and health. Lea&Febiger 4.ed. 1993.
47. KREIDER, R. B.; MIRIEL, V.; BERTUN, E. Amino acid supplementation and exercise performance. **Sports Medicine**, Auckland, v.16, n.3, p.190-209, 1993.

48. LAHAL, W.; BRAUN, S. D. Enzymatic production of protein hydrolysates for food use. **Food Technology**, Chicago, p. 68-71, oct.1994.
49. LANCHA, J. A. H. Resistência ao esforço físico: efeito da suplementação nutricional de carnitina, aspartato e asparagina, São Paulo, 1991, 76 p. Dissertação (Mestre em Ciências Farmacêuticas)- Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo.
50. LAYMAN, D. K. Energy and protein metabolism during exercise. **Cereal Foods World**, Minneapolis, v.32, n.2, p.178-181, 1987.
51. LAYMAN, D. K.; PAUL, G.; OLKEN, M. H. Metabolismo de aminoácidos durante o exercício. In: Nutrição no Exercício e no Esporte. 2.ed. p.539, 1996.
52. LEHNINGER, A. L. Princípios de bioquímica. São Paulo: Sarvier, 650p. 1986.
53. LEMON, P. W. R.; MULLIN, J. P. Effect of initial muscle glycogen levels on protein catabolism during exercise. **Journal of Applied Physiology**, Bethesda, v.48, n.4, p.624-629, 1980.
54. LEMON, P. W. Protein and exercise: update 1987. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v.19, n.5, p.179-190, 1987.

55. LINDER, M. C. Energy metabolism, intake and expenditure. In: Nutritional Biochemistry and Metabolism with Clinical Applications. 2^oed. Appleton & Lange p.277-300, 1991.
56. LOWRY, O.H; ROSEBROUGH, N.J; FARR, A.L; RANDALL, R.J. Protein measurement with the folin phenol reagent. **Journal Biological Chemistry**. 293. p.265-275, 1951.
57. MONTGOMERY, D. The role of lactate in exercise and sport performance. **Revista Brasileira de Ciências e Movimento**, v.4, n.2, p.32-50, 1990.
58. MEREDITH, C. N.; ZACKIN. M. Y.; FRONTERA, W. R.; EVANS, W. J. Dietary protein requirements and body protein metabolism in endurance-trained men. **Journal of Applied Physiology**, Bethesda, v.66, n.6, p.2850-2856, 1989.
59. MEREDITH, J. W.; DITESHEIM, J. A.; ZALOGA, G. P. Visceral protein levels in trauma patients are greater with peptide diet than with intact protein diet. **The Journal of Trauma**, Baltimore v.30, n.7, p. 825-29, 1990.
60. NEWSHOLME, E. A.; LEECH, A. R. **Biochemistry for the medical sciences**. London, John Wiley, 1989. 952p.

61. PEDERSEN, B. Removing Bitterness from protein hydrolysates. **Food Technology**, Chicago, p.86-88, oct. 1994.
62. REGOUW, B. J. M.; CONELISSEM, P. J. H.; HELDER, R. A. P.; SPIJKERS, J. B. F.; WEEBER, Y. M. M. Specific determination of free fatty acid in plasma, **Clinical Chimica Acta**, Amsterdam, v.3, p.87-95, 1972.
63. REEVES, P. G.; NIELSEN, F. H.; FAHEY, 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-1976A rodent diet. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v.123, p.1939-1951, 1993
64. RENNIE, M. J.; WINDER, W. W.; HOLLOSZY, J. O. A sparing effect of increased plasma fatty acids on muscle and liver glycogen content in the exercising rat. **Biochemical Journal**, v.156, p.647-655, 1976.
65. RENNIE, M. J.; EDWARDS, R. N. T.; KRYWAWYCH, S.; DAVIES, C. T. M.; HALLIDAY, D.; WATERLOW, J. C.; MILLWARD, D. J. Effect of exercise on protein turnover in man. **Clinical Sciences**. v.61, p.627-630, 1981.

- 66.ROMIJN, J. A.; COYLE, E. F.; SIDOSSIS, S. L.; ZHANG, X. J.; WOLFE, R. R. Relationship between fatty acid delivery and fatty acid oxidation during strenuous exercise. **Journal of Applied Physiology**, Bethesda, v.79, n.6, p.1939-1945, 1995.
- 67.ROTH, D. A. The sarcolemmal lactate transporter: transmembrane determinants of lactate flux. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v.23, p.925-934, 1991.
- 68.SAITOH, S.; SUZUKI, M. Nutritional design for repletion of liver and muscle glycogen during endurance exercise without inhibiting lipolysis. **Journal Nutritional Science and Vitaminology**, Tokyo, v.32, p. 343-353, 1986.
- 69.SALWAY, J G. Metabolism at a glance. Blackwell Scientific Publications, 95p. 1994.
- 70.SJORGREEN, N. B.; NORDENSKJOLD, T.; HOLMGREN, H.; WOLLERSTROM, J. Beertrag zur ketnis des le berrhythmik Pfluges Arch. Gesante Physiology. Meenschen tiere. v.240, p.247, 1938.
- 71.SLAVIN, J. L.; LANNERS, G;ENGSTROM, M. A.Amino Acid Supplements: Beneficial or Risky?. **The Physician and Sports Medicine**,v.16, n.3, p.221-224,1988.

72. SPACKMAN, D. H.; STEIN, W. H.; MOORE, S. Automatic recording apparatus for use in the chromatography of amino acids. **Cereal Chemistry**, St. Paul, v.30, n.7, p.1190-1206, 1958.
73. STANKO, R. T.; DIVEN, W. F.; ROBERTSON, R. J.; SPINA, R. J.; REILLY, G. J. J.; SARIS W.; GOSS, F. L. Amino acid arterial concentration and muscle exchange during submaximal arm and leg exercise: The effect of dihydroxyacetone and pyruvate. **Journal Sports Medicine and Physical Fitness**, Turin, v.24, p.17-23, 1993.
74. STEIN, T. P.; HOYT, R. W. W.; TOOLE, M. O.; LESKIW, M. J.; SCHLUTER, M. D.; WOLF, R. R.; HILLER, W. D. B. Protein and energy metabolism during prolonged exercise in trained athletes. **International Journal of Sports Medicine**, Stuttgart, v.10, n.5, p.311-316, 1989.
75. TARNOPOLSKY, L. J.; ATKINSON, S. A.; MacDOUGALL, J. D.; PHILLIPS, S.; SCHWARZ, H. P. Evaluation of protein requirements for trained strength athletes. **Journal of Applied Physiology**, Bethesda, v.73, n.5, p.1986-1995, 1992.

76. TARNOPOLSKY, L. J.; ATKINSON, S. A.; MacDOUGALL, J. D.; PHILLIPS, S.; SCHWARZ, H. P. Whole body leucine metabolism during and after resistance exercise in fed humans. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, Madison, v.23, n.3, p.326-333, 1991.
77. TARNOPOLSKY, L. J.; MacDOUGALL, J. D.; ATKINSON, S. A.; TARNOPOLSKY, M. A.; SUTTON, J. R. Gender differences in substrate for endurance exercise. **Journal of Applied Physiology**, Bethesda, v.68, n.1, p.302-308, 1990.
78. VAN DER BEEK, E. J. Vitamins and endurance training food for running or faddish claims. **The Physician and Sports Medicine**, Minneapolis, v.2, p.175-197, 1985.
79. ZAWADZKI, K. M.; YASPELKIS, B. B.; IVY, J. L. Carbohydrate-protein complex increases the rate of muscle glycogen storage after exercise. **Journal of Applied Physiology**, Bethesda, v.72, n.5, p.1854-1859, 1992.
80. WAGINMAKERS, A. J. M.; BECKERS, E. J.; BROUNS, F.; KUIPERS, H.; SOERTERS, P. B.; VUSSE, G. J. V. D.; SARIS, W. H. M. Carbohydrate supplementation, glycogen depletion, and amino acid metabolism during exercise. **American Journal of Physiology**, Bethesda, v.260, p.883-890, 1991.

81. WAHREN, J. Metabolic adaptation to physical exercise in man. In
Endocrinology. Degroot, L. J. Grumer, 1979
82. WILLIAMS, S. R. Essentials of nutrition and diet therapy. 6.ed. 1990.
83. WOLFE, R. R.; GOODERNOUGH, R. D.; WOLFE, M. H.; ROYLE, G.T.;
NARDEL, E. R. Isotopic analysis of leucine and urea metabolism in
exercising humans. **Jounal Applied Physiology**, Bethesda, v.52, n.2,...p.458-
466, 1982.
84. YOUNG, V. R. Metabolic and nutritional aspects of physical exercise.
Federation Proceedings, Bethesda, v.44, n.2, p.341-342, 1985.

ANEXOS

Tabela 3 - Análise de Variância para avaliação do possível efeito do treinamento (NA), Dieta e interação NA X Dieta, sobre a glicemia.

Fonte Variação	GL	SQ	SQM	F	P
NA	1	1806.83841	1806.838413	6.92	0.0147
Dieta	2	6412.622907	3206.311453	12.27	0.0002
NAXDieta	2	238.416827	119.208413	0.46	0.6390
Resíduo	24	6269.357440	261.223227		
total	29	14727.235587			

Tabela 4 - Análise de Variância para avaliação do possível efeito do treinamento (nível de atividade, NA), Dieta e interação NA X Dieta sobre o conteúdo plasmático de AGL.

Fonte Variação	GL	SQ	SQM	F	P
NA	1	0.05547000	0.05547000	2.57	0.1219
Dieta	2	0.12324667	0.06162333	2.86	0.0771
NAXDieta	2	0.05246000	0.02623000	1.22	0.3140
Resíduo	24	0.51764000	0.02156833		
total	29	0.74881667			

Tabela 5 - Análise de Variância para avaliação do possível efeito do treinamento (nível de atividade, NA), Dieta e a interação NA X Dieta sobre o conteúdo de lactato no plasma.

Fonte Variação	GL	SQ	SQM	F	P
NA	1	250.8520833	250.8520833	40.59	0.0001
Dieta	2	13.7220467	6.8610233	1.11	0.3458
NAXDieta	2	125.5796467	62.7898233	10.16	0.0006
Resíduo	24	148.3096400	6.1795683		
total	29	538.4634167			

Tabela 6 - Análise de Variância para avaliação do possível efeito do treinamento (nível de atividade, NA), Dieta e a interação NA X Dieta sobre a concentração plasmática de albumina.

Fonte Variação	GL	SQ	SQM	F	P
NA	1	0.00736333	0.00736333	0.01	0.9159
Dieta	2	13.10872667	6.55436333	10.15	0.0006
NAXDieta	2	0.53592667	0.26796333	0.14	0.6651
Resíduo	26	16.03904667	0.61688641		
total	29	26.15513667			

Tabela 7 - Análise de Variância para avaliação do possível efeito do treinamento (nível de atividade, NA), Dieta e a interação NA X Dieta sobre a concentração de proteínas séricas totais.

Fonte Variação	GL	SQ	SQM	F	P
NA	1	2.29080333	2.29080333	1.65	0.2109
Dieta	2	1.97388667	0.98694333	0.71	0.5008
NAXDieta	2	2.42820667	1.21410333	0.88	0.4295
Resíduo	24	33.27672000	1.38653000		
total	29	39.96961667			

Tabela 8 - Análise de Variância para avaliação do possível efeito do treinamento (nível de atividade, NA), Dieta e a interação NA X Dieta sobre o conteúdo de glicogênio muscular.

Fonte Variação	GL	SQ	SQM	F	P
NA	1	0.00096333	0.00096333	0.22	0.6422
Dieta	2	0.07532667	0.03766333	8.66	0.0015
NAXDieta	2	0.01464667	0.00732333	1.68	0.2069
Resíduo	24	0.10440000	0.00435000		
total	29	0.19533667			

Tabela 9 - Análise de Variância para avaliação do possível efeito do treinamento (nível de atividade, NA), Dieta e a interação NA X Dieta sobre o conteúdo de glicogênio hepático.

Fonte Variação	GL	SQ	SQM	F	P
NA	1	0.00800333	0.00800333	2.27	0.1447
Dieta	2	0.00924667	0.00462333	1.31	0.2877
NAXDieta	2	0.01012667	0.00506333	1.44	0.2572
Resíduo	24	0.08452000	0.00352167		
total	29	0.11189667			

Tabela 10 - Análise de Variância para avaliação do possível efeito do treinamento (nível de atividade, NA), Dieta e a interação NA X Dieta sobre o conteúdo de proteína muscular.

Fonte Variação	GL	SQ	SQM	F	P
NA	1	0.57132000	0.57132000	4.31	0.0489
Dieta	2	0.40442000	0.20221000	1.52	0.2382
NAXDieta	2	0.69882000	0.34941000	2.63	0.0925
Resíduo	24	3.18412000	0.13267167		
total	29	4.85868000			