



Mirtes Stancanelli

EFEITO ERGOGÊNICO DO CALDO DE CANA

Este exemplar corresponde à redação final
da tese defendida pelo(a) candidato (a)
MIRTES STANCANELLI
e aprovada pela Comissão Julgadora.
[Signature]

Tese apresentada ao Instituto de Biologia para obtenção do título de Mestre em Biologia Molecular e Funcional, na área de Bioquímica.

Orientadora – Profa. Dra. Denise Vaz de Macedo
Departamento de Bioquímica – I. B.
UNICAMP

Campinas, 2006

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE BIOLOGIA – UNICAMP

St24e

Stancanelli, Mirtes

Efeito ergogênico do caldo de cana / Mirtes
Stancanelli. -- Campinas, SP: [s.n.], 2006.

Orientadora: Denise Vaz de Macedo.
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de
Campinas, Instituto de Biologia.

1. Caldo de cana. 2. Glicogênio. 3. Fibras
musculares. 4. Jogadores de futebol. 5. Rato. I.
Macedo, Denise Vaz de. II. Universidade Estadual de
Campinas. Instituto de Biologia. III. Título.

Título em inglês: Ergogenic effect of sugar cane juice.

Palavras-chave em inglês: Sugarcane; Glycogen; Fiber types; Soccer players; Rats.

Área de concentração: Bioquímica.

Titulação: Mestre em Biologia Funcional e Molecular.

Banca examinadora: Denise Vaz de Macedo, Miguel Arcanjo Areas, Célio Kenji Miyasaka.

Data da defesa: 24/01/2006.

Campinas, 24 de fevereiro de 2006

Banca Examinadora

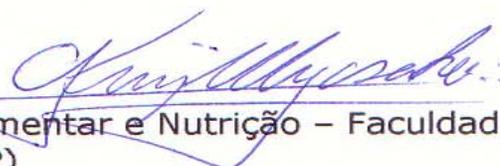
Profa. Dra. Denise Vaz de Macedo
(IB – UNICAMP – Orientador)



Prof. Dr. Miguel Arcanjo Áreas
(Departamento de Fisiologia – Instituto de Biologia – UNICAMP)



Prof. Dr. Célio Kenji Miyasaka
(Departamento de Planejamento Alimentar e Nutrição – Faculdade de Engenharia de Alimentos - UNICAMP)



Profa. Dra. Eneida de Paula
(Departamento de Bioquímica – Instituto de Biologia – UNICAMP)



Profa. Dra. Flávia Maria Netto
(Departamento de Alimentos e Nutrição – Faculdade de Engenharia de Alimentos – UNICAMP)



A trajetória da vida é árdua e o amadurecimento vem pelas experiências... Obrigada Pai por mais este momento, que a minha vida seja para a honra e glória do Seu nome.

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, **Nadir** e **Calógero**, que mesmo em todas as nossas dificuldades me ensinaram valores imprescindíveis para o meu crescimento como ser humano e assim enfrentar de forma limpa as adversidades da vida.

Obrigada pelo amor, união, força e luta.

Agradeço a Deus por ter me dado vocês como Pais.

Aos meus irmãos **Vera, Sérgio e Marco**, pelas orações e por sempre me darem força, cada um de sua forma, em todas as horas de maior necessidade.

Aos meus sobrinhos **Silas e Gabriela**, pelas horas de conversa e lazer, me orgulho de vocês...

AGRADECIMENTOS

A *Profa. Dra. Denise Vaz de Macedo*, pela oportunidade de realização deste trabalho, pela paciência, pelo carinho, pelo conhecimento adquirido, por ter me guiado no caminho fascinante da ciência e, acima de tudo, pela amizade construída nestes anos...

A amiga *Fernanda Lorenzi Lazarim*, pelos momentos de estudo, pelo carinho e paciência, pela preocupação, pela grande colaboração e vontade de ajudar em muitos momentos desta tese...

Ao *Prof. Dr. Armindo Antônio Alves*, sempre presente como amigo e mestre...

Aos colegas de laboratório, *Madla Adami Passos, Ana Carolina Normand e Danilo Ferrucci*, pela várias “horas de bancada” meu muito obrigada.

Ao amigo *Charles Lopes*, por tudo que enfrentamos e por acreditar em meu trabalho...

A todos os *Colegas do LABEX* pelas grandes discussões, críticas e sugestões em diversos momentos...

Aos colegas *Ana Porto e Daniel*, por tudo estar sempre disponível no laboratório para a realização deste trabalho.

As colegas *Andréia e Marina*, pela colaboração fundamental nesta tese...

Aos *amigos da igreja* pela companhia e por sempre estarem orando pela minha vida.

ÍNDICE

ABREVIATURA	ix
RESUMO	x
ABSTRACT	xi
INTRODUÇÃO	1
Vias Metabólicas produtoras de ATP nos músculos em exercício	1
Lactato e Acidose intramuscular	4
Fibras Musculares	5
Destinos do lactato pós exercício de alta intensidade	6
Treinamento reservas de Glicogênio e overtraining	7
Síntese de glicogênio	9
Fases lenta e rápida da síntese de glicogênio muscular	12
Tipos de Carboidratos	14
Quanto e Quando	16
OBJETIVOS	18
PARTE I – Efeito da suplementação com caldo de cana em jogadores de futebol sobre a concentração plasmática de uréia e CK.	19
MATERIAL E MÉTODOS	20
Sujeitos	20
Protocolo de utilização do caldo de cana	20
Cronograma das análises	20
Coleta do sangue e preparo das amostras	20
Análises bioquímicas	21
Avaliação nutricional	21
Análise estatística	21
RESULTADOS E DISCUSSÃO	22
Justificativa para o uso de complementação de carboidratos	22
Avaliação indireta dos efeitos da suplementação com caldo de cana	24
PARTE II – Efeito ergogênico do caldo de cana na reposição dos estoques de glicogênio pós exercício intenso em ratos.	28

MATERIAL E MÉTODOS	29
Animais	29
Protocolo de exercício exaustivo.	29
Retirada das amostras de tecidos.	29
Quantificação da concentração de glicogênio em pequenas amostras de tecido.	30
Curva glicêmica	33
Análise estatística.	33
RESULTADOS	34
Concentração de glicogênio após jejum de 30 horas na ausência ou presença de exercício intenso.	34
Concentração de glicogênio após gavagem com água.	36
Concentração de glicogênio após gavagem com caldo de cana.	38
Curva glicêmica com o caldo de cana na ausência ou presença de exercício	40
Efeito do caldo de cana sobre os níveis de alteração muscular pós-exercício exaustivo.	40
DISCUSSÃO	42
PROSPECTIVAS	44
CONCLUSÃO	45
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	46
COMUNICAÇÕES EM CONGRESSO	52
PUBLICAÇÕES	52

ABREVIATURAS

ADP	Adenosina Difosfato
AMP	Adenosina Monofosfato
AU	Ácido Úrico
CHO	Carboidrato
CJ	Grupo Controle Jejum
CK	Enzima Creatina Quinase
CO	Grupo Controle
CP	Cadeia Pesada
CSJ	Grupo Controle Jejum sem Exercício
CTE	Cadeia de Transporte de Elétrons
DHAP	Diidroxiacetonafosfato
DRI _s	Ingestão Dietética Recomendada
G3P	Glicose 3 Fosfato
GB	Músculo Gastrocnêmio Branco
GLUT	Transportador de Glicose
GV	Músculo Gastrocnêmio Vermelho
H ₂ SO ₄	Ácido Sulfúrico
HPO ₄ ⁻	Fosfato Inorgânico
IC	Iniciação Científica
IG	Índice Glicêmico
IMP	Inosina Monofosfato
J	Grupo Jejum
JE	Grupo Jejum e Exercício
JEA	Grupo Jejum e Exercício Gavagem com água
JECC	Grupo Jejum e exercício Gavagem com Caldo de Cana
KOH	Hidróxido de Potássio
LAC	Lactato
LDH	Enzima Lactato Desidrogenase
MCT _s	Transportadores de Monocarboxilatos
MK	Mioquinase
MMH	Molécula de Meromiosina
Na ₂ SO ₄	Sulfato de Sódio
NAD ⁺	Coenzima Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo
NADH	Coenzima Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo Reduzido
NS	Grupo não Suplementado com Caldo de Cana
PCr	Fosfocreatina
PGK	Enzima Fosfoglicerato Quinase
Pi	Fosfato Inorgânico
PIR	Piruvato
PK	Enzima Piruvato Quinase
PP _i	Pirofosfato
S	Grupo Suplementado com Caldo de Cana
UDP	Uridina Difosfato
UTP	Uridina Trifosfato

RESUMO

Os objetivos desse trabalho foram: i) analisar as concentrações plasmáticas de uréia e creatina quinase (CK) de jogadores de futebol que consumiram caldo de cana imediatamente pós-treinos ou jogos durante todo o Campeonato Brasileiro ii) analisar o efeito da gavagem estomacal com caldo de cana em ratos submetidos a um protocolo de exercício exaustivo agudo na reposição dos estoques de glicogênio muscular e hepático. A sessão de exercício agudo consistiu em natação com carga de 10% do peso corporal até a exaustão após jejum de 30 horas. Imediatamente após o exercício, os animais suplementados receberam água ou caldo de cana por gavagem estomacal. Os dados com os jogadores mostraram uma concentração plasmática de uréia, aliada a uma concentração estável da CK plasmática ao longo de todo o campeonato, sugerindo uma possível ação ergogênica do caldo de cana. O exercício agudo diminuiu significativamente os estoques de glicogênio somente nos músculos gastrocnêmio branco e vermelho dos ratos. A suplementação com caldo de cana (0,7g/kg de peso corporal) aumentou significativamente os estoques de glicogênio desses músculos, sem alterar a concentração de glicogênio hepático. Os ratos suplementados também exibiram maior resistência muscular pós-exercício. Esses dados comprovam o efeito ergogênico do caldo de cana na reposição dos estoques de glicogênio muscular. Entre outras vantagens, o caldo de cana é um produto de fácil obtenção e principalmente de baixo custo, ideal para as condições socio-econômicas dos atletas nacionais.

Palavra Chave: caldo de cana, glicogênio, fibras musculares, exercício exaustivo, ratos, futebol.

ABSTRACT

The goal of this work were i) monitoring soccer players (n=29) submitted to sugar cane juice consumption immediately after training or games through plasma urea and CK analyses along the Brazilian Championship, and ii) investigate the effect of sugar cane juice ingestion in the restoration of muscular and liver glycogen stores after high intense exercise in rats. The rats swam with 10% body weight load until exhaustion after 30 hours fasting. Immediately after exercise the supplemented animals got water or sugar cane juice from stomach gavages. We have used 56 male Wistar rats weighting from 280 to 310 g, which were divided in 7 groups; control (C); fasting (F); fasting and exercise (FE); water supplemented (WS); and sugar cane juice supplemented (SCS). Liver, white and red gastrocnemius and soleus muscles samples were removed after 40 and 60 min to glycogen concentration determinations. The players exhibited a decrease in plasma urea together with stable levels of plasma CK activity along all the championship, suggesting a recovery action. The exhaustive exercise decreased significantly only the red and white gastrocnemius muscle glycogen stores. Sugar cane juice supplementation (0,7 g/kg body weight) increased significantly glycogen stores of these muscles, but practically didn't change liver glycogen concentration after 1 h. These data strongly suggest that sugar cane juice is efficient to maximize the rate of glycogen storage in the early hour's post- exercise.

Key-words: sugar cane, glycogen, fiber types, rats, soccer players, exhaustive exercise

INTRODUÇÃO

A manutenção da vida depende do fornecimento contínuo de energia para todas as células do organismo. Essa energia é derivada da energia química contida nas duas últimas ligações fosfato da molécula de ATP (adenosina trifosfato). Para cada grupamento fosfato hidrolisado a energia livre liberada é de aproximadamente -14 kcal/mol, ou -31 kJ/mol (Veech *et al*, 1979). As enzimas que catalisam a reação de hidrólise da ligação fosfato do ATP possuem atividades de ATPase ou quinase. Essa reação também produz ADP, fosfato inorgânico (HPO_4^-) e íons H^+ , uma vez que o pKa dos átomos de oxigênio remanescentes do grupo fosfato são muito baixos para serem protonados em pH fisiológico (Figura 1).

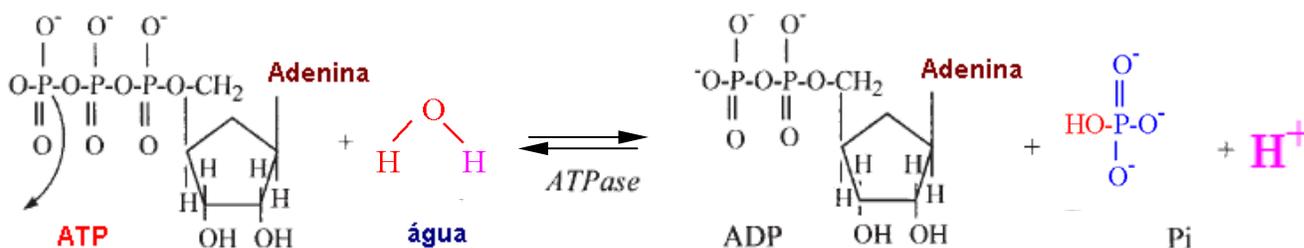


Figura 1. Hidrólise do ATP na miosina ATPase.

O fato da hidrólise de ATP contribuir para o aumento de H^+ no citosol nunca foi muito explorado na literatura, até o trabalho de Robergs (2001), que postulou essa via como a grande responsável pela acidose intramuscular induzida pelo exercício de intensidade máxima.

Vias metabólicas produtoras de ATP nos músculos em exercício

Como seres aeróbicos, os mamíferos normalmente usam os produtos da hidrólise do ATP (ADP, HPO_4^- (Pi) e íons H^+) para sua ressíntese. Esse processo ocorre em organelas especializadas chamadas mitocôndrias. Dessa forma o pH é mantido constante quando prevalece o metabolismo aeróbico.

O tecido muscular apresenta uma peculiaridade em relação aos demais. Enquanto a maioria dos tecidos praticamente não altera sua atividade metabólica, a musculatura esquelética pode aumentar muitas vezes sua

demanda energética durante o exercício quando comparada aos níveis basais (Astrand & Rodahl, 1986). Os estoques de ATP intramusculares permitem a realização de exercícios de intensidade muito elevada por aproximadamente 1 a 2 segundos somente (Sahlin,1986). Na medida em que o esforço físico se prolonga a ressíntese de ATP deve ser feita através da quebra de reservas intracelulares.

Existem quatro processos comuns produtores de energia para a ressíntese do ATP nos músculos: três que utilizam enzimas citosólicas, com atividade *quinase*, anaeróbicos e um aeróbico, que utiliza enzimas com atividade *desidrogenase* como geradoras de poder redutor. Essas enzimas estão presentes na matriz e complexos protéicos da membrana mitocondrial interna.

Exercícios prolongados, de intensidades sub-máxima ou no limiar anaeróbico utilizam a energia do metabolismo oxidativo (Figura 2).

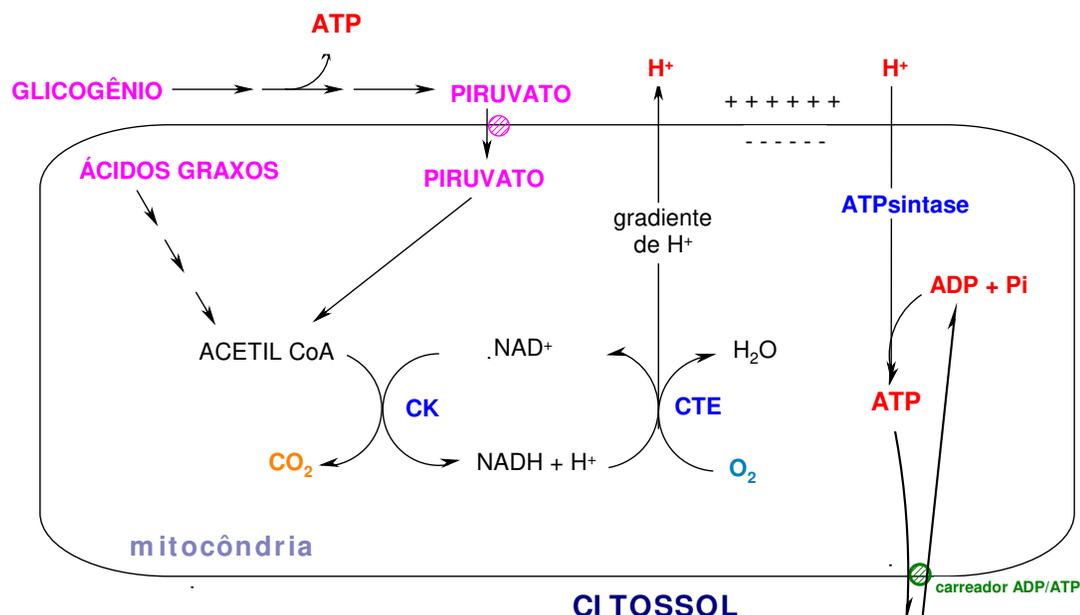


Figura 2. Via Aeróbica de produção de ATP.

Durante a prevalência do metabolismo oxidativo, tanto os carboidratos (glicogênio e glicose) como os ácidos graxos (tecido adiposo ou intramusculares) e aminoácidos de cadeia ramificada fornecem o acetil CoA que alimenta a produção de coenzimas reduzidas pelo ciclo de Krebs (CK), que são reoxidadas nos complexos protéicos (I a IV) da cadeia de transporte de

elétrons (CTE). Isso é feito através de uma seqüência de reações que têm a participação da coenzima Q, citocromo c e do O_2 , como acceptor final de elétrons. O retorno dos prótons pela enzima FoF₁ATP sintetase é imprescindível para a produção de ATP e é impulsionado pelo gradiente eletroquímico de H^+ gerado pela CTE. Ou seja, a fosforilação oxidativa é a principal via de tamponamento dos H^+ produzidos no citosol pela hidrólise de ATP (Robergs *et al*, 2004). A via oxidativa é recrutada também durante as pausas, na recuperação de esforços intensos e intermitentes.

Por outro lado, quando os exercícios são intensos e de curta duração a fosforilação do ADP é feita predominantemente pela ação de enzimas com atividade quinase, que catalisam a transferência de grupos fosfato de *compostos ricos em energia* já existentes na musculatura, como a *fosfocreatina* (PCr) e *ADP*, ou formados a partir da quebra do glicogênio muscular ou da glicose sanguínea, como o *1,3-bisfosfoglicerato* (1,3-BPG) e *fosfoenolpiruvato* (PEP), conforme mostrado na Figura 3.

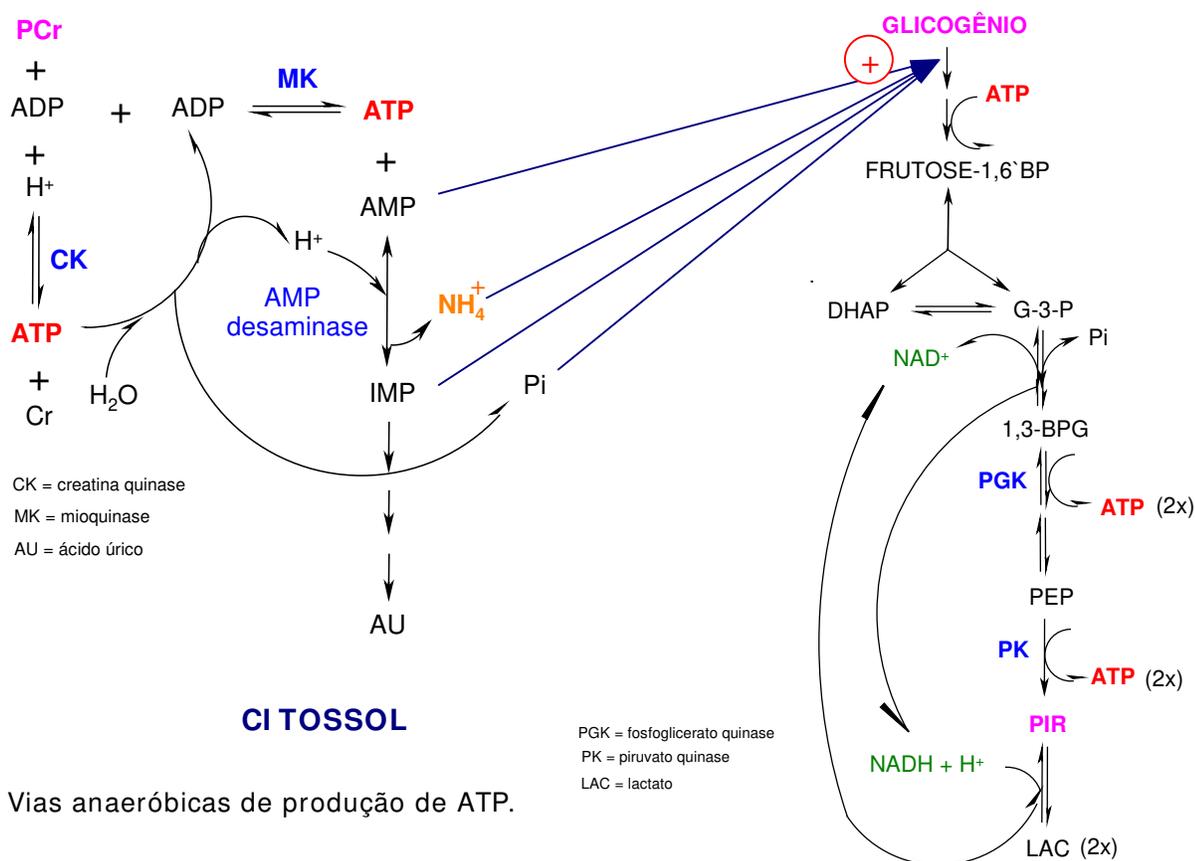


Figura 3. Vias anaeróbicas de produção de ATP.

No repouso, a energia que o organismo humano necessita é derivada quase igualmente da degradação de carboidratos e lipídios (Wilmore & Costill, 2001). As proteínas são utilizadas para síntese, e normalmente fornecem pouca energia para o metabolismo celular. Com o aumento da intensidade do exercício mais carboidratos são usados, diminuindo a participação dos lipídios. Observou-se que a ativação da contração muscular pelo Ca^{2+} e o acúmulo de produtos da hidrólise do ATP e ADP, tais como AMP, IMP, NH_3 e Pi atuam como estimuladores da glicogenólise (Figura 2A), via responsável por até 80% do ATP necessário durante esforços intensos, de aproximadamente 3 minutos (Gaitanos, 1993).

Resumindo, a ressíntese de ATP durante os *sprints* (esforços em intensidade máxima) é suprida basicamente pelas vias anaeróbicas alática e láctica, cujo predomínio depende da carga e do tempo de pausa entre os *sprints* (Balsom *et al.*, 1992). Por sua vez, o rearmazenamento de PCr e a oxidação do lactato dependem do metabolismo aeróbico. Assim, um exercício intermitente, de alta intensidade induz uma alternância nas concentrações de fosfocreatina intramuscular (PCr) e uma diminuição acentuada nas concentrações de glicogênio (Hargreaves, *et. al.*, 1997).

Lactato e acidose intramuscular

O aumento nas atividades das enzimas mioquinase e AMP desaminase reflete a incapacidade da respiração mitocondrial em fornecer ATP para o citosol muscular. Essas condições celulares coincidem com um aumento rápido nas concentrações de lactato e acúmulo de H^+ (pH diminuído) na musculatura. Até pouco tempo atrás se acreditava que o aumento na produção de “ácido láctico” na musculatura durante exercício intenso ocorria concomitante à produção de prótons (H^+), contribuindo para o abaixamento do pH intramuscular.

A partir das publicações de (Robergs, 2001; Robergs *et al*, 2004) está cada vez mais evidente que a principal via de produção de H^+ na musculatura é a hidrólise do próprio ATP, e que a produção de lactato pela via glicolítica,

através da ação da enzima lactato desidrogenase, na realidade contribui para a não acidificação intramuscular, pois retira prótons do meio (Figura 3).

Isso desfaz o mito da acidose láctica como a responsável pela fadiga em exercícios de alta intensidade, há tanto tempo defendido na literatura. Derrubar um mito requer muita resistência e discussão. No momento, há uma grande troca de correspondências entre grupos, abordando principalmente a estequiometria dos processos produtores e consumidores de H^+ durante o catabolismo (Kemp, 2005; Lindinger *et al.*, 2005; Robergs *et al.*, 2005). No entanto, já é bem aceita a idéia da não produção de ácido láctico durante a prática de exercícios intensos, mas sim de lactato (Lindinger *et al.*, 2005).

O lactato formado nos músculos, por sua vez, é transportado para a corrente sanguínea através de uma classe de transportadores de monocarboxilatos (MCTs), em co-transporte com H^+ (Gladen, 2004). Ou seja, o aumento de lactato no plasma também contribui para a manutenção do pH intramuscular, pois retira H^+ do músculo.

Fibras musculares

O músculo é composto de células, as fibras musculares, que não são todas idênticas, mas existem como um conjunto de isoformas. Isso confere plasticidade aos músculos esqueléticos. Ou seja, permite que os músculos possam alterar suas características fenotípicas em função de uma melhor adaptação funcional frente a estímulos variados. A velocidade e a força de contração desenvolvida por um músculo dependem de duas coisas, da quantidade de fibras ativas, e de suas propriedades contráteis e metabólicas.

A cadeia pesada (CP) da molécula de meromiosina (MMH), constituinte do filamento grosso é a proteína miofibrilar predominante nos músculos esqueléticos e desempenha um papel crucial na contração muscular. Por exemplo, a velocidade máxima de encurtamento de uma única fibra muscular está fortemente correlacionada com o tipo de isoforma de CP que predomina no músculo, e conseqüentemente, com a velocidade de hidrólise de ATP catalisada por ela (Reiser *et al.*, 1985).

Em relação à velocidade de contração foram caracterizadas histoquimicamente, funcionalmente e bioquimicamente três categorias básicas de fibras musculares em mamíferos: fibras de contração lenta, oxidativas (Tipo I); fibras de contração rápida, oxidativas e glicogenolíticas (Tipo IIa) e fibras de contração rápida, glicogenolíticas (Tipo IIx), cada uma delas adaptada para realizar diferentes funções motoras.

As *fibras do tipo I* produzem uma contração de baixa intensidade, lenta e prolongada, sendo recrutadas principalmente em exercícios de intensidade moderada. Seu metabolismo predominante é aeróbico. Contém grandes quantidades de mioglobina e de mitocôndrias. Possuem atividade glicolítica moderada, e utilizam melhor os ácidos graxos como fonte de energia (em particular os extra musculares). Essas fibras são muito resistentes à fadiga, característica essencial durante o esforço de *endurance*.

As *fibras do tipo II* apresentam uma contração rápida, breve e intensa. São ricas em glicogênio. Este tipo de fibra pode ser subdividida em outros dois sub-grupos, com propriedades metabólicas diferentes (Pette & Staron, 1990). São recrutadas de uma forma dependente de intensidade, da IIa para a IIb, respectivamente.

As *fibras IIa* tem uma contração rápida, aliada a uma boa resistência à fadiga. Elas utilizam preferencialmente a glicólise aeróbica (com talvez um volume mitocondrial idêntico ao das fibras do tipo I). As *fibras IIb* tem uma capacidade oxidativa baixa. São recrutadas em esforços máximos e utilizam preferencialmente a glicólise anaeróbica, com alta produção de lactato. Apresentam baixa resistência à fadiga.

Em certos mamíferos como rato e coelho foram identificadas ainda as fibras *IIx ou IIc*, ricas em enzimas oxidativas, relativamente resistentes à fadiga, e que também utilizam preferencialmente a glicólise aeróbica (Thomason *et al*, 1986).

Destinos do lactato nos músculos pós-exercício de alta intensidade.

O destino do lactato nos músculos depende do tipo de fibra envolvida. A perfusão dos diferentes tipos de fibras com uma solução de lactato que variou de 1 a 12 mM mostrou que todos os três tipos de fibras passaram de *produtores* de lactato numa concentração baixa, a *consumidores* de lactato, com o aumento da concentração de lactato. Essa transição aconteceu na presença de concentrações menores de lactato nas fibras tipo I e IIa quando comparada com as fibras tipo IIb (Donovan & Pagliassoti, 2000).

Nas fibras tipo I e IIa a oxidação é a principal via de escoamento do lactato, contribuindo para a remoção de cerca de 50% do lactato (Hatta *et al.*, 1988). Donovan & Pagliassoti (2000) mostraram também que carbonos presentes no lactato aparecem incorporados em aminoácidos dentro das fibras musculares, indicando que a via de transaminação também contribui significativamente para a remoção do lactato nos diferentes tipos de fibras.

A gliconeogênese muscular, com formação de glicogênio parece ser a principal via de remoção do lactato nas fibras tipo IIb. Demonstrou-se que a atividade gliconeogênica é quantitativamente similar nas fibras tipo IIa e IIb, e negligível nas fibras tipo I (Donovan & Pagliassoti, 2000). É importante ressaltar que essa via é considerada como a principal fonte de carbonos para a reposição de glicogênio muscular que acontece após exercícios intensos na ausência de alimentação (Fournier *et al.*, 2002).

Estudos mostraram que a gliconeogênese muscular é substancialmente diferente da gliconeogênese hepática. Na gliconeogênese muscular não há a participação de intermediários do ciclo de Krebs, nem da enzima PEP carboxiquinase. Postula-se que a formação de PEP nos músculos ocorre pelo reverso da reação catalisada pela enzima piruvato quinase (Brodal & Hjelle, 1990).

Treinamento, reservas de glicogênio e *overtraining*

A modulação da intensidade, duração e freqüência de esforço físico durante as sessões de treino têm o objetivo de aumentar o rendimento em capacidades motoras diversas, que diferem em ordem de prioridade, dependendo da

especificidade do trabalho muscular realizado (Bompa, 2002). O princípio da sobrecarga é um dos princípios do treinamento necessários para a adaptação do organismo. Do ponto de vista metabólico e fisiológico, sobrecarga significa que o exercício realizado deve constituir-se num estímulo estressor suficiente para provocar distúrbios agudos relacionados à fadiga nas células, órgãos e estruturas envolvidas com o movimento.

É importante ressaltar que as respostas adaptativas positivas que esperamos que aconteçam nessas estruturas, e que envolvem processo inflamatório, responsável pelo reparo e regeneração dos tecidos, aumentos nas concentrações de reservas intramusculares de ATP, aumentos nas atividades de enzimas-chave do metabolismo e síntese de novas proteínas acontecem durante o período de descanso. Quando este período é adequado, a resposta adaptativa leva à condição conhecida como supercompensação. Nesse momento, a aplicação de novo estímulo leva a um melhor suprimento energético se os exercícios necessitarem de maior mobilização metabólica ou, ao contrário, a uma economia de energia em atividades físicas que já eram habituais (Fry et al., 1992; Bruin et al., 1994). Assim, a aplicação do princípio da sobrecarga induz fadiga reversível (*fadiga aguda de treinamento*) e a *supercompensação* ocorre com alguns dias ou de um período de carga de treinamento reduzida ou de descanso (também chamado de micro-ciclo regenerativo).

Como o glicogênio muscular é o principal combustível para o exercício, independente da intensidade empregada, restaurar os estoques de glicogênio muscular após um exercício exaustivo é provavelmente um dos fatores mais importantes na determinação do tempo de recuperação, sendo que a restauração completa depende da extensão da depleção e do fornecimento de carboidratos. Assim, atletas deveriam consumir carboidratos imediatamente após exercícios extenuantes principalmente quando há menos de 8 horas entre dois turnos de exercícios, como acontece nas competições de diversas modalidades (Jentjens & Jenkendrup, 2003).

A magnitude da depleção do glicogênio parece ser diretamente proporcional à intensidade e quantidade de trabalho executado. Ou seja, a

velocidade de utilização do glicogênio é maior quando aumenta a intensidade, sendo que a quantidade total de glicogênio utilizada está na dependência do total de trabalho executado durante as sessões de treinamento.

A utilização de glicogênio pelo músculo durante exercícios de alta intensidade é mais rápida do que aquela que ocorre com exercícios de *endurance*, embora o glicogênio muscular também seja um fator limitante do esforço mesmo em exercícios leves, se esses forem feitos por tempos muito prolongados (Costill, 1986). Um exercício de alta intensidade com duração de 30 segundos causa consumo de glicogênio semelhante ao que ocorre em 5-6 sessões de exercícios de *endurance* com múltipla repetição (Jenkins *et. al.*, 1993).

Overtraining é um termo geral, que indica um desequilíbrio constante entre cargas de esforço físico e período regenerativo, no sentido de aumentos no primeiro, resultando num estado crônico de fadiga associado à perda de performance, mesmo após um período maior de recuperação (Stone *et al.*,1991; Kuipers & Keizer, 1998; Platen, 2002a). A literatura denomina o *overtraining* de curta-duração de *overreaching*. Os sintomas do *overreaching* podem ser revertidos por um período regenerativo mais longo que o normal (Fry *et al.*,1992; Kuipers,1998; Petibois,2003).

É importante ressaltar que entre as teorias propostas na literatura para explicar as causas do *overtraining*, uma delas sugere que uma proteólise acentuada, decorrente principalmente de situações de reposição parcial das reservas de glicogênio muscular pós-exercícios ou jogos seria a responsável pelo alto grau de fadiga que o caracteriza (Costill,1988). Nesse sentido, estoques maiores de glicogênio muscular antes do exercício estão associados com a melhoria do rendimento e capacidade de manter força e potência, um critério normalmente utilizado para definir fadiga (Maclaren *et al*, 1989).

Síntese de Glicogênio

O principal produto da digestão do amido e do açúcar provenientes da dieta é a glicose. A glicose entra nas células, incluindo músculo e fígado, sendo

imediatamente usada, ou armazenada na forma de glicogênio para uso posterior, através de uma série de reações que consomem ATP, numa via chamada glicogênese (Figura 4).

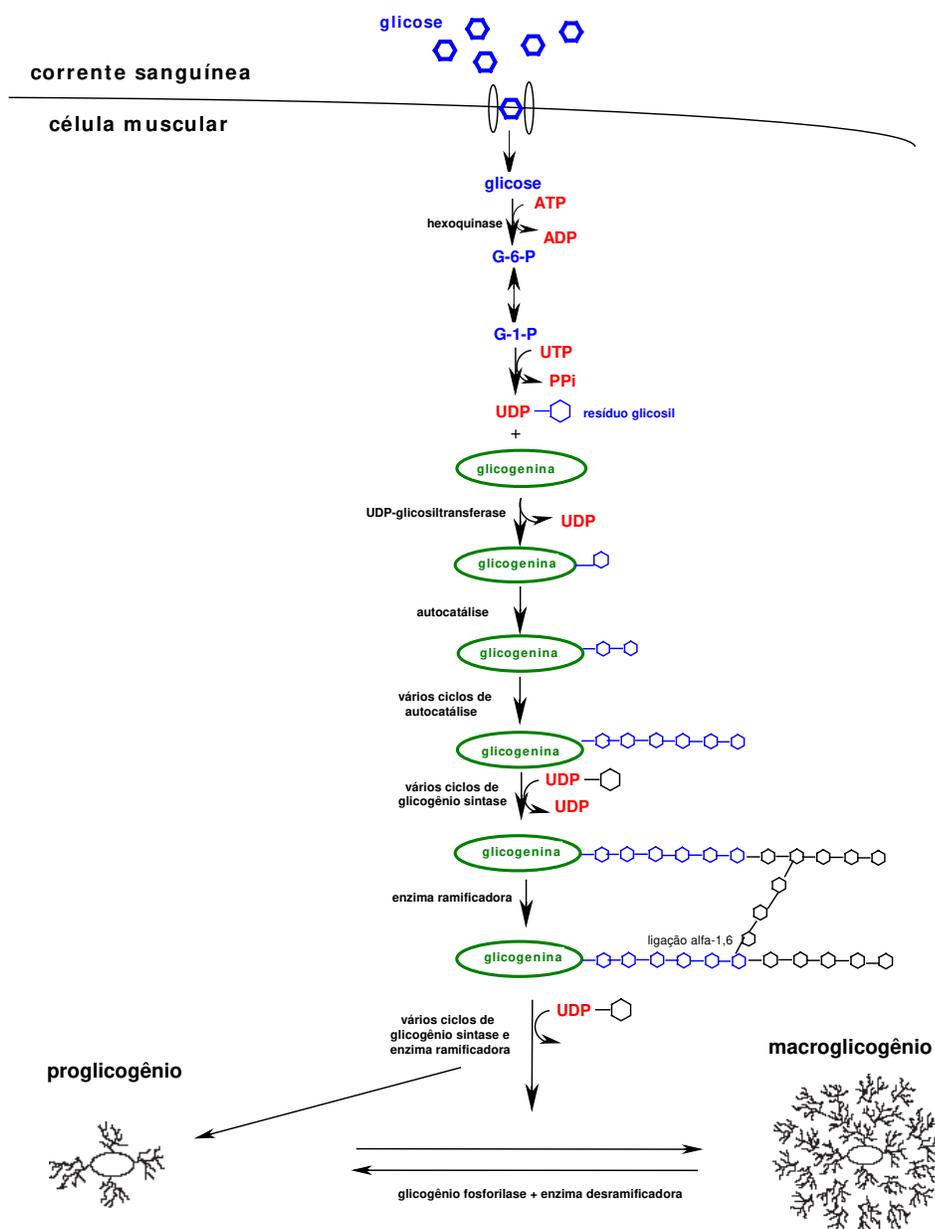


Figura 4. Representação esquemática da síntese de glicogênio nas fibras musculares.

A fonte da primeira molécula de glicogênio, que agiria como um *primer* para a síntese de glicogênio pela enzima glicogênio sintase, permaneceu desconhecida até a identificação de uma proteína, chamada glicogenina, localizada no centro das moléculas de glicogênio (Alonso *et al.*, 1995). Esta proteína foi identificada como a menor subunidade (37 kDa) da glicogênio sintase (Hansen *et al.*, 2000). A glicogenina possui atividade autocatalítica, que permite a transferência de resíduos de glicose da molécula de UDP-glicose para ela própria, através da ligação à Tyr-194 (Lomako, 1990, 1991, 1993). Subsequentemente, a glicogenina gera um oligossacarídeo *primer*, com 7-11 resíduos glicosil, que serve como substrato para a enzima glicogênio sintase. A partir daí a enzima glicogênio sintase, em conjunto com a enzima ramificadora catalisam a formação de dois *pools* distintos de glicogênio: *proglicogênio* e *macroglucogênio* (Alonso *et al.*, 1995).

O *proglicogênio* é o primeiro a ser formado. Conforme mais unidades de glicose vão sendo adicionadas, o *proglicogênio* se expande para a forma de *macroglucogênio*. O *proglicogênio* é um intermediário pequeno e dinâmico do glicogênio, com uma massa molecular de 400 KDa, enquanto o *macroglucogênio* é a forma estocável, podendo alcançar uma massa de 10.000 KDa (Adamo *et al.*, 1998). Os dois *pools* possuem conteúdo protéico idêntico, mas diferem no número de unidades de glicogênio. Assim, a glicogenina representa 10% do peso de uma molécula de *proglicogênio*, mas apenas 0,4% da molécula de *macroglucogênio* (Derave, 2000).

Embora sejam ainda pouco estudados, esses dois *pools* parecem diferir na velocidade de degradação e síntese, e na sensibilidade à manipulação dietética (Adamo, 1998). Foi proposto que os *macroglucogênios* são metabolizados durante exercícios aeróbicos enquanto os *proglicogênios* são metabolizados durante condições anaeróbicas (Rosenvold, 2003). No entanto, um estudo realizado com dez corredores submetidos a biópsias musculares imediatamente ao término e 15 minutos após um teste de exercício intenso aumentando a carga gradativamente até a fadiga mostrou que ambos, *pro* e *macroglucogênio* contribuíram igualmente para a glicogenólise durante o exercício. Neste estudo

o autor também sugeriu que a ressíntese de glicogênio começa no *pool* de proglicogênio (Brojer, 2002)

Foi também reportado que o proglicogênio é mais sensível aos carboidratos da dieta, sendo sintetizado mais rapidamente após uma depleção de glicogênio pós-exercício. Essa síntese alcança um *plateau* após 24 hs. A síntese do macroglicogênio é relativamente mais lenta e mais constante, podendo durar horas ou até dias (Adamo *et al*, 1998; Goforth *et al*, 1997; Price *et al*, 1994). O *pool* de macroglicogênio parece ser responsável pela supercompensação dos estoques de glicogênio, observada após ingestão de dietas ricas em carboidratos realizadas após alguns dias de exercícios que depletam o glicogênio (Jentjens & Jenkendrup, 2003).

Fases lenta e rápida da síntese de glicogênio muscular

Uma grande oferta de glicose na corrente sanguínea aumenta a glicemia sinalizando a liberação de insulina pelo pâncreas, hormônio responsável por estimular a síntese de glicogênio através da ativação da enzima glicogênio sintase. É importante ressaltar que a ação da insulina sinaliza, ao mesmo tempo, a inibição da degradação do glicogênio formado.

A captação da glicose plasmática pelas células hepáticas não é diretamente dependente da ação da insulina, mas a captação de glicose pelas fibras musculares é insulino-dependente. Isso porque os transportadores de glicose nos músculos (GLUT-4) são armazenados em vesículas no interior do citosol e necessitam da interação insulina-receptor e ativação dessa cascata hormonal para migrarem para o sarcolema, permitindo com isso a entrada de glicose. A partir daí a glicose é convertida em glicogênio, e fica armazenada na musculatura.

A síntese de glicogênio muscular no período de recuperação pós-exercício tem tamanha prioridade metabólica, que os ácidos graxos intramusculares são quebrados numa velocidade aumentada para fornecer combustível para o trabalho oxidativo muscular (Kiens & Richter, 1998). Nessa situação, a reposição do glicogênio depletado pelo exercício é bifásica, exibindo uma fase

inicial rápida < 24h (independente de insulina) e uma fase lenta (dependente de insulina), que dura dias (Goforth, 1997; Price, 1994) (Figura 5).

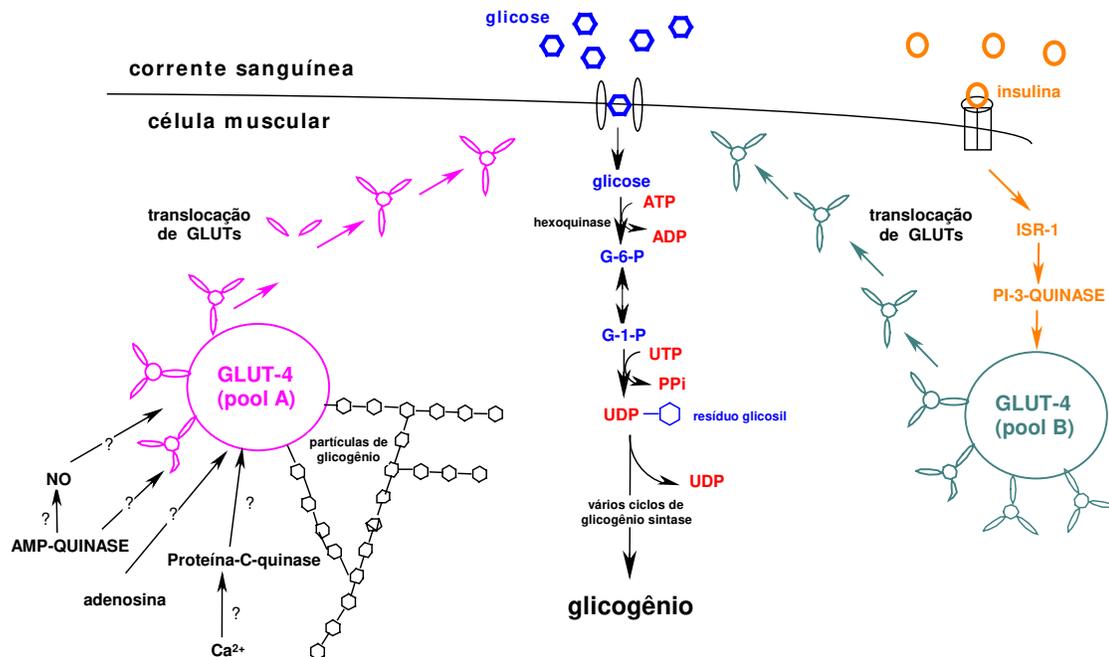


Figura 5. Migração de GLUTs armazenados em vesículas no citosol para a membrana nas fases rápida e lenta de reposição de glicogênio pós-exercício intenso.

A fase rápida de reposição de glicogênio começa imediatamente após o término do exercício e dura aproximadamente de 30 a 60 minutos. Essa fase é mais visível principalmente quando as concentrações de glicogênio intramusculares estão muito baixas, e o carboidrato é fornecido imediatamente após o exercício (Maehlum *et al*, 1977; Price *et al*, 1994). Seguindo essa fase rápida de síntese de glicogênio, a síntese acontece numa velocidade muito mais lenta, e necessita da presença de carboidratos e altos níveis de insulina (Ivy, 1991).

Estudos propõem que um *pool* de GLUTs-4 e a atividade da enzima *glicogênio sintase* seriam regulados pela concentração de glicogênio intramuscular. Ou seja, quanto menor a concentração de glicogênio muscular (maior a depleção), maior seria a atividade da enzima glicogênio sintase e a migração dos GLUTs-4 desse pool para a membrana. Imediatamente após o

exercício esse sinal seria maior do que o da insulina (Jentjens & Jenkendrup, 2003). O exercício também é um regulador positivo potencial da atividade da enzima glicogênio sintase, que é imediatamente ativada ao seu término, contribuindo para a reposição de glicogênio pelos mecanismos independentes da insulina (Nielsen & Wojtaszewski, 2004). Uma combinação de outros fatores, ainda em estudo, parece estar envolvida na sinalização da fase rápida da síntese de glicogênio, conforme mostrado na Figura 4.

A fase lenta é caracterizada por um aumento marcado na sensibilidade à insulina tanto dos GLUTs-4 como da enzima glicogênio sintase (Cartee *et al*, 1990). Dependendo do consumo de carboidrato, e da magnitude da concentração de glicogênio a sensibilidade à insulina no músculo pode ficar aumentada por um longo período de tempo (> 48h) (Cartee *et al*, 1990). Foi demonstrado recentemente que vários dias de exercício também aumentam a sensibilidade da enzima glicogênio sintase à insulina (Wojtaszewski *et al*, 2000). Estudos sugerem que a concentração do glicogênio no músculo, fatores séricos, AMPK e moléculas sinalizadoras de insulina estariam envolvidas nesse processo (Nielsen & Wojtaszewski, 2004).

Tipos de carboidratos

Os carboidratos são classificados em relação à estrutura química dos seus constituintes. Dessa forma, são divididos entre carboidratos simples – monossacarídeos ($C_6H_{12}O_6$), como glicose e frutose, e dissacarídeos, como sacarose (glicose + frutose), ou carboidratos complexos (polissacarídeos, como o amido).

A velocidade de absorção de carboidratos influencia a secreção de insulina e conseqüentemente a resposta da glicemia plasmática. Dessa forma, os carboidratos podem ser classificados funcionalmente de acordo com a extensão com que aumentam os níveis de glicose sanguínea. Isso levou ao conceito de Índice Glicêmico (IG) dos alimentos, que é a medida para a resposta da glicose sanguínea após a ingestão de alimento que contenha certa quantidade de glicose (geralmente 50 g), comparada com a glicemia alcançada quando uma

quantidade igual de glicose ou pão branco (com uma quantidade igual de glicose) é ingerida (Ludwig, 2000).

Vários estudos reportaram velocidades mais baixas de síntese de glicogênio muscular com a ingestão de frutose (baixo IG) quando comparadas com a glicose (alto IG) (Blom *et al*, 1987; Conlee *et al*, 1987; Van den Bergh *et al*, 1996). Isso ocorre possivelmente devido a uma velocidade de absorção intestinal mais lenta (Fujisawa *et al*, 1993; Henry *et al*, 1991) e porque a frutose necessita ser convertida em glicose no fígado para poder ser utilizada posteriormente pela musculatura (Mendolff & Weichselbaum, 1953). Já a síntese de glicogênio hepático é praticamente igual com a suplementação de frutose ou glicose.

Por outro lado, alguns estudos mostraram velocidade similar de síntese de glicogênio com a ingestão de sacarose (IG moderado) ou glicose (IG alto) pós-exercício (Blom *et al*, 1987; Casey *et al*, 2000). Isso é intrigante, uma vez que a sacarose contém quantidades equimolares de glicose e frutose e, portanto, somente metade da quantidade de glicose estaria disponível para a síntese de glicogênio. Sugeriu-se que com o metabolismo da frutose, ocorrendo predominantemente no fígado inibiria a captação hepática de glicose pós-exercício, e com isso mais glicose sairia do fígado para ser utilizada pelos músculos (Blom *et al*, 1987).

A Tabela I apresenta a composição do caldo de cana, com uma alta concentração de sacarose, que corresponde de 70 a 90% de seus sólidos solúveis.

Tabela I. Composição do caldo de cana.

FONTE: <http://www.ucb.br/quimica/.../bebida/materia.htm>;
<http://www.ufrgs.br/Alimentus/feira/mpoutro/cana/agron.htm>.

Composição centesimal de cana de açúcar.	
Elementos	Porcentagem dos componentes
Água	74,50
Sílica (SiO ₂)	0,25
Potássio (K ₂ O)	0,12
Sódio (Na ₂ O)	0,01
Cálcio (CaO)	0,02
Cinzas	0,50
Magnésio (MgO)	0,01
Ferro (Fe ₂ O ₃)	traços
Fósforo (P ₂ O ₅)	0,07
Sulfatos (SO ₃)	0,02
Cloretos (Cl)	traços
Celulose	5,50
Fibra	10,00
Sacarose	12,50
Matérias Nitrogenadas	0,40
Nitrogênio total	0,06
Ácido aspártico	0,20
Ácido nítrico	0,01
Amoníaco	traços
Corpos xânticos	traços

Embora seja um produto genuinamente nacional, de baixo custo e de boa aceitação pela população brasileira e contenha uma quantidade significativa de sacarose, não há estudos na literatura em relação ao seu uso como um recurso ergogênico para a reposição de glicogênio muscular pós-exercício.

Quanto e Quando?

A diferença pré e pós atividade física no conteúdo de glicogênio muscular representa a quantidade utilizada. Essa variação deve ser considerada, visto que a ressíntese de glicogênio ocorre somente durante períodos de descanso, e através de alimentação adequada. Ou seja, a dependência muscular pelos carboidratos está relacionada tanto com sua disponibilidade quanto com um sistema enzimático muscular bem desenvolvido para sua oxidação, sendo que

a ressíntese do glicogênio também é determinada pela quantidade e, principalmente, pelo tipo de carboidrato consumido (Ivy, 1999).

Está bem documentado na literatura que a ingestão de carboidratos de moderado a alto índice glicêmico (0,7 – 1,5 g/kg de peso corporal, respectivamente) em intervalos freqüentes (15 a 60 minutos) durante um período de recuperação de 3 a 4 horas permite uma maior reposição de glicogênio (Jentjens & Jenkendrup, 2003).

Ivy *et al.*, 1988 mostraram taxas de síntese de glicogênio muscular 42% mais baixas quando a ingestão de carboidrato pós exercício foi atrasada por duas horas em comparação com a ingestão de carboidrato imediatamente após o exercício. Goodyear *et al* (1990) mostraram que duas horas após o exercício o número de transportadores de glicose associados ao sarcolema de ratos já retornaram às concentrações pré-exercício.

OBJETIVOS

Os objetivos dessa tese de mestrado foram: i) acompanhar os efeitos do consumo de caldo de cana (sacarose) por jogadores de futebol imediatamente pós-treinos ou jogos durante todo o Campeonato Brasileiro de 2001 de uma forma indireta, através da análise das concentrações plasmáticas de uréia (catabólito proveniente da proteólise muscular) e da enzima creatina quinase (CK) (biomarcador de alteração muscular); ii) analisar o efeito da gavagem com caldo de cana após um protocolo de exercício exaustivo agudo em ratos na reposição dos estoques de glicogênio muscular e hepático.

***Parte I. Efeito da suplementação com
caldo de cana em jogadores de
futebol sobre a concentração
plasmática de uréia e CK.***

MATERIAL E MÉTODOS

Sujeitos

Participaram das análises 29 atletas de futebol de um time da Primeira Divisão, categoria Profissional, com idade média de $23,77 \pm 3,29$ anos. Este trabalho contou com a aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia da Unicamp. Todos os atletas envolvidos tomaram conhecimento prévio do estudo e assinaram um termo de consentimento pós-informação (044/2000).

Protocolo de utilização do caldo de cana

O caldo de cana foi ingerido por todos os jogadores durante todo o período que compreendeu a preparação e participação no Campeonato Brasileiro (julho a dezembro de 2001), sempre imediatamente ao término dos treinos ou jogos. A suplementação com caldo de cana foi individualizada, através do cálculo de 0,7 g/Kg de peso corporal do atleta (Friedman et al., 1991, Robergs, 1991). Para isso, uma lista com o nome dos atletas e suas respectivas quantidades de caldo de cana era fornecida ao mordomo, que ficava responsável por sua distribuição.

Cronograma das análises

Foram feitas cinco análises de sangue durante todo o Campeonato Brasileiro nas seguintes fases: **A.** Período Preparatório; **B.** Período Pré-Competitivo; **C, D, e E.** Período Competitivo, nas datas mostradas abaixo:

(03/07)	(03/08)	05/09	18/10	28/11
A	B	C	D	E

Coleta do Sangue e Preparo das Amostras

A coleta do sangue (5 mL) foi realizada no Labex, sob responsabilidade de uma farmacêutica credenciada, seguindo todos os cuidados de higiene e assepsia. O sangue foi coletado em tubo heparinizado, e em seguida, centrifugado por 15 min, a $3000 \times g$ para separação do plasma das células

sanguíneas. O plasma foi utilizado para análise da atividade da enzima Creatina Quinase (CK) e da concentração de Uréia.

Análises Bioquímicas

As análises bioquímicas foram realizadas através de kits específicos Wiener lab no aparelho automatizado Autolab Boehringer. A determinação da atividade da enzima creatina quinase no plasma foi realizada à temperatura de 37°C. Juntamente com os testes foi realizado o controle interno de qualidade para os analitos através de soro controle comercial Standatrol S-E 2 níveis, Wiener lab.

Avaliação Nutricional

A avaliação nutricional do grupo de jogadores foi feita no início da temporada, numa entrevista no próprio clube. Nesse momento foi aplicado inquérito alimentar pelo método recordatório alimentar de 24 horas, associado com informações sobre a dieta habitual (história dietética) e um questionário de frequência alimentar. Após sua obtenção, os dados foram analisados em relação às Recomendações Nutricionais (DRIs) através da utilização do programa de nutrição Virtual Nutri (Phillip et al., 1996).

Análise Estatística

O programa Matlab 7.0 foi utilizado para as análises de comparação entre as medianas dos dois protocolos. Os dados foram apresentados em gráficos do tipo *boxplot*. Este tipo de gráfico permite visualizar a variabilidade da resposta intra-grupo, impossível de ser feita através dos valores da média. Assim, o gráfico tipo *boxplot* mostra a mediana (linha vermelha) dos dados e sua divisão em quartis, conforme mostrado na Figura 6.

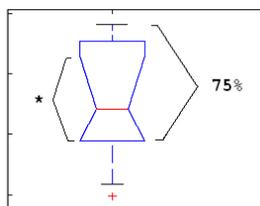


FIGURA 6. Exemplo esquemático da interpretação de resultados em gráficos tipo *boxplot*.

O espaço em branco dentro das linhas azuis representa 50% dos dados, 25% acima e 25% abaixo da mediana. As duas linhas tracejadas representam os 50% dos valores mais distantes. Dados que se diferenciam muito do comportamento geral são colocados fora dos quartis e são chamados de *outliers* ou valores extremos (representados por +). A faixa representada na Figura por um asterisco (*) representa o intervalo de confiança da mediana.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Justificativa para o uso de complementação de carboidratos

Todas as recomendações para os atletas devem ser baseadas em informações científicas recentes e nas suas necessidades individuais (Paquot, 2001). Assim, a avaliação dietética individualizada do grupo de jogadores foi feita no início do Campeonato Brasileiro.

A Figura 7 apresenta os dados do consumo diário de energia (kcalorias) dos jogadores de futebol, comparada com os cálculos do consumo energético ideal para cada atleta.

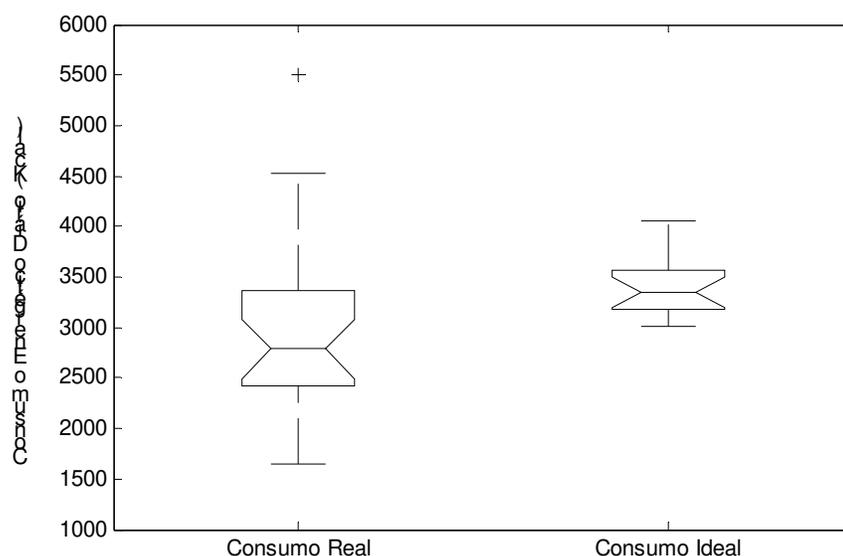


Figura 7. Média diária de energia em kcalorias consumida pelos jogadores de futebol em relação à média de ingestão sugerida. Percentis (▲) 99% (▼) 1% (■) média dos dados.

Observou-se que a maior parte dos jogadores consumia calorias abaixo do que deveria ser consumido diariamente (consumo ideal).

A Figura 8 apresenta a distribuição percentual da ingestão média diária de carboidratos (CHO), proteínas e lipídios dos jogadores de futebol.

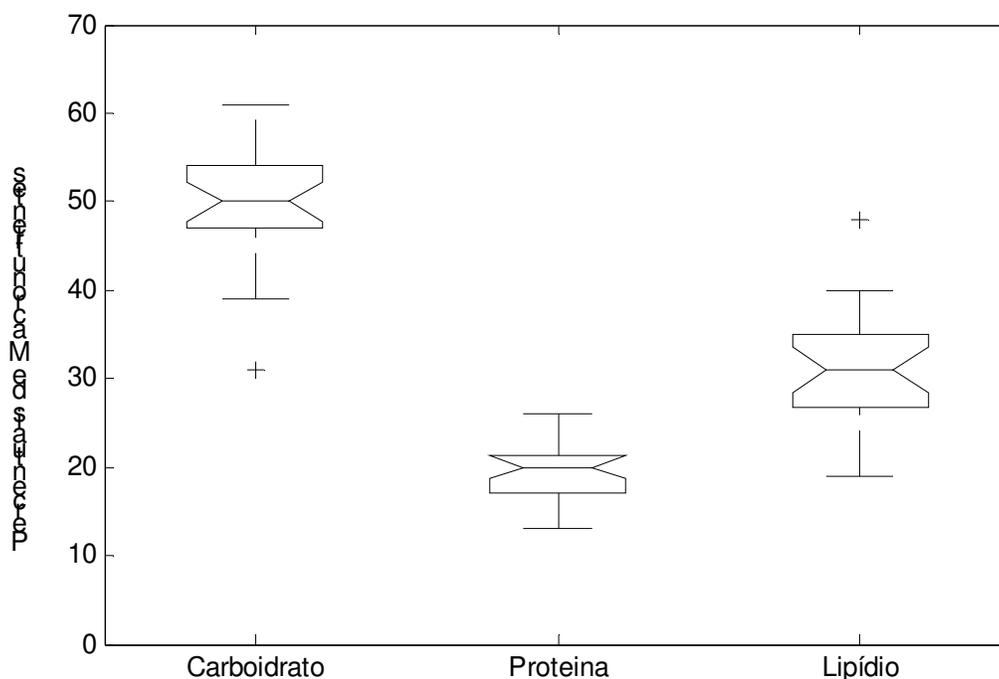


Figura 8. Distribuição percentual da ingestão média diária de Carboidratos, Proteínas e Lipídios dos jogadores de futebol (B).

Os dados da Figura 8 indicaram que a maior deficiência em macronutrientes estava justamente no consumo de carboidratos, preconizado para atletas entre 60 a 70% do total de calorias da dieta, em função do volume e intensidade do treinamento (Gonzalez-Gross *et al.*, 2001). Esses dados, infelizmente, não são um caso particular dessa equipe. Normalmente as dietas de atletas de alto rendimento, quando comparadas às recomendações dietéticas diárias são

deficientes, principalmente em carboidratos (Hawley *et al.*, 1995; Grandjean, 1997).

A recomendação para facilitar a ingestão adequada de carboidratos e ajudar no monitoramento do peso quando necessário, é que uma dieta contenha de 20 a 25% do total de calorias na forma de gordura, tomando-se cuidado para prover ácidos graxos essenciais e vitaminas lipossolúveis assim como ajudar a fornecer energia para a manutenção do peso, e de 12 a 15% do total de calorias na forma de proteínas, que deveriam ser utilizadas apenas para prover a construção e reparo dos tecidos (Horn,2000). Podemos observar na Figura 7B que a totalidade dos atletas consumia mais do que o recomendado de proteínas e lipídeos.

A mudança de um hábito alimentar é um processo lento, que requer re-educação e acompanhamentos constantes. Como nutricionista do clube, optei pela complementação de carboidratos pós-treinos e jogos na forma de caldo de cana, aliado a tentativa de adequação do cardápio dos jogadores, para mantê-los com uma quantidade de calorias compatível com seu gasto energético diário. Assim, desde a pré-temporada e durante todo o Campeonato Brasileiro os atletas fizeram uso de caldo de cana (0,7g/kg peso corporal) após todos os treinos e principais jogos.

Avaliação indireta dos efeitos da suplementação com caldo de cana.

Está relatado na literatura que após uma partida de futebol os níveis de glicogênio muscular podem cair significativamente. Na realidade, mesmo durante a semana de treinamentos os estoques de glicogênio podem sofrer ligeira queda (Bangsbo, 1994). Nessa situação inicia-se um processo catabólico generalizado, pois à medida que o glicogênio muscular vai se esgotando, o organismo passa a utilizar proteínas tanto como fonte de energia como fonte de glicose. Como resultado do uso aumentado de aminoácidos, a concentração de uréia no plasma tende a aumentar.

Foi mostrado que atletas que iniciavam os jogos com baixos níveis de glicogênio percorriam distâncias 25% menores que outros atletas que tinham

seus estoques de glicogênio normais, sugerindo que os níveis e a capacidade de utilização dos estoques de glicogênio muscular estão intimamente relacionados com a performance no futebol. Dohm e colaboradores (1982) mostraram correlação entre valores de uréia plasmática aumentados e traumas na musculatura (gerados através dos próprios estímulos de treino).

Com a ruptura da membrana celular quando a musculatura é danificada, algumas proteínas se movem das células para o interstício, e do interstício, dependendo do tamanho se movem ou diretamente para a corrente sanguínea ou para a linfa, e depois para a corrente sanguínea via ducto torácico. As enzimas e proteínas freqüentemente analisadas após dano muscular induzido pelo exercício incluem a creatina quinase (CK), lactato desidrogenase (LDH), aspartato aminotransferase e mioglobina (Sayers & Clarkson, 2003).

A Figura 9 apresenta concentrações plasmáticas de uréia analisadas ao longo do Campeonato Brasileiro.

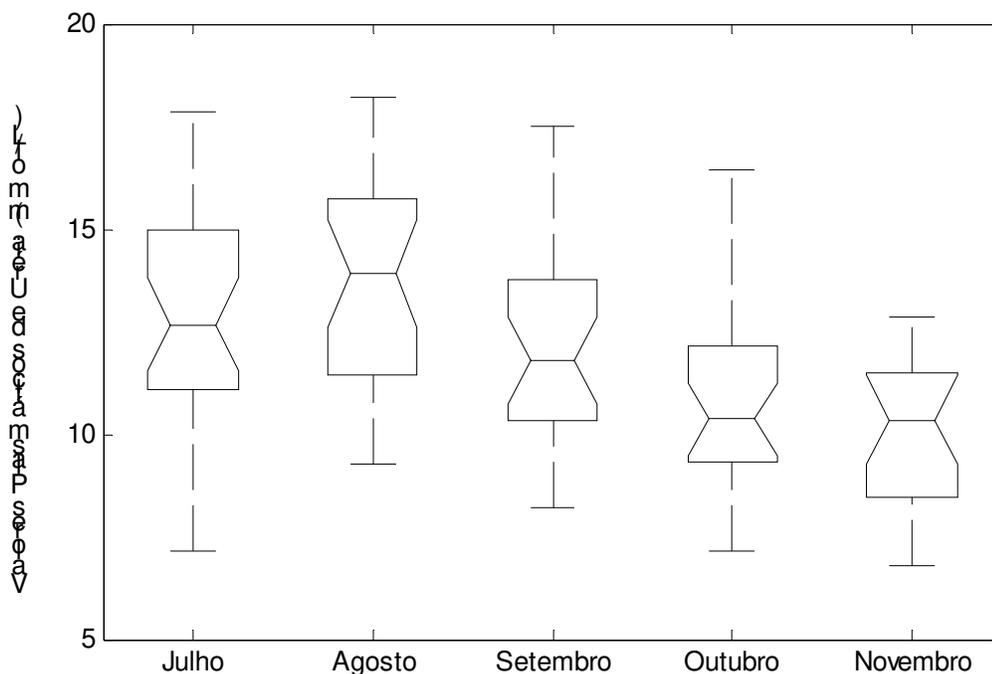


Figura 9. Concentrações plasmáticas de uréia no grupo de jogadores de futebol, analisadas ao longo de todo o Campeonato Brasileiro. Percentis (▲) 99% (▼) 1% (■) média dos dados.

Embora não tenha havido uma queda significativa, os valores da mediana dos dados apresentaram-se diminuídos ao longo dos meses. Esses dados sugerem fortemente que os jogadores estavam com estoques adequados de glicogênio ao longo de toda a temporada.

A Figura 10 apresenta concentrações plasmáticas da enzima CK analisadas ao longo do Campeonato Brasileiro

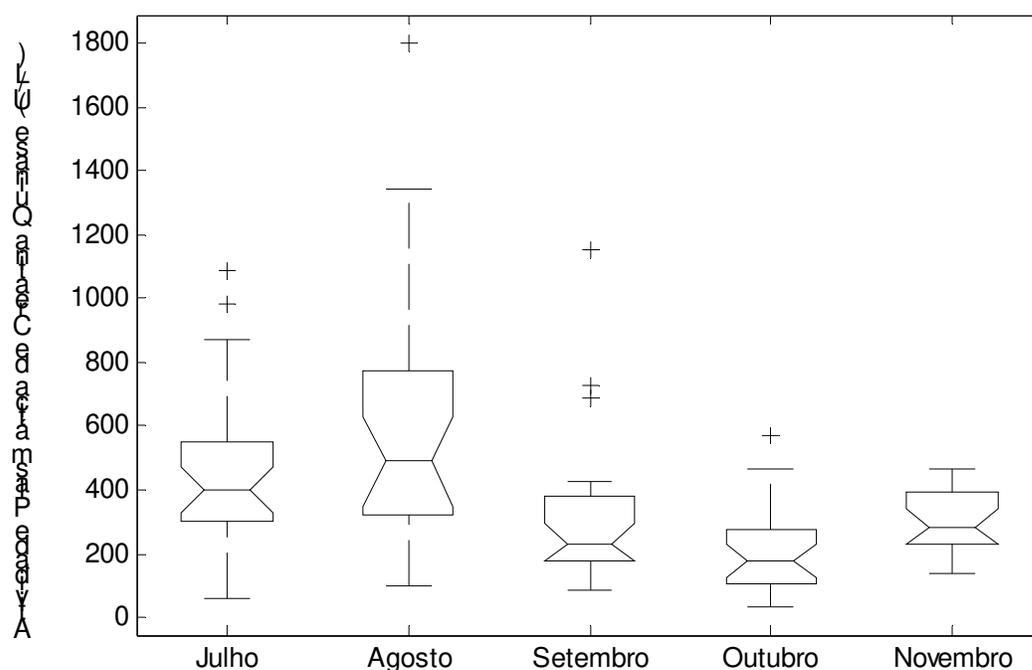


Figura 10. Atividade plasmática da enzima CK no grupo de jogadores de futebol, analisadas ao longo de todo o Campeonato Brasileiro. Percentis (▲) 99% (▼) 1% (■) média dos dados.

Da mesma forma, observou-se decréscimo nos valores da mediana do grupo de jogadores. Esses dados sugerem uma boa resposta adaptativa às cargas de esforço físico inerentes ao final do campeonato. Quanto aos valores absolutos encontrados, as medianas apresentaram-se em todos os momentos analisados acima dos padrões de referência para indivíduos sedentários, sugerindo a necessidade do estabelecimento de valores de referência específicos para jogadores da modalidade futebol.

O futebol é a modalidade mais praticada em todo o mundo, envolvendo uma gama enorme de interesses culturais, sociais e econômicos. Nesse sentido, sabemos como é grande a exportação de jogadores de nosso País para atuarem no exterior, que envolvem grandes negociações e mexem com o emocional de torcedores no mundo todo. Isso faz com que a preservação física dos jogadores seja tão importante quanto montar esquemas técnicos e táticos que, por sua vez, dependem de um bom condicionamento físico, pois significam uma economia enorme para os clubes.

O glicogênio muscular é o principal combustível para o trabalho muscular, pois pode ser utilizado para a produção de ATP tanto pela via anaeróbica (glicólise anaeróbica) como aeróbica (glicólise aeróbica), em função do destino do piruvato formado: se reduzido a lactato, ou se oxidado a CO_2 e H_2O , respectivamente. Dessa forma, uma boa nutrição associada a um treinamento adequado são pontos-chave para um bom desempenho no esporte. O consumo correto de alimentos antes, durante e depois dos exercícios pode ajudar a maximizar o rendimento e melhorar o tempo de recuperação (Horne, 2000). Fica claro nesse estudo a importância da intervenção nutricional nesse processo, que provavelmente contribuiu para a 6ª colocação no Campeonato Brasileiro obtida pela equipe no ano de 2001.

Os dados apresentados nesse estudo sugerem fortemente uma ação ergogênica para o caldo de cana como repositor dos estoques de glicogênio muscular na recuperação de esforços intensos.

***Parte II. Efeito ergogênico do caldo de
cana na reposição dos estoques
de glicogênio pós-exercício
intenso em ratos.***

MATERIAL E MÉTODOS

Animais

Foram utilizados 56 ratos machos, da linhagem Wistar, pesando entre 280 a 310 g. Os animais foram adquiridos no Centro de Bioterismo da Unicamp e acomodados em biotério climatizado a 25° C (± 1), com controle de ciclo de luz claro-escuro de 12 horas invertido, com acesso ilimitado à água e dieta padrão do laboratório.

Os animais foram divididos nos seguintes grupos: CO (controle), J (jejum de 30 horas), JE (jejum de 30 horas seguido de exercício agudo), JEA (jejum de 30 horas seguido de exercício e gavagem com água, análise após 40 e 60 minutos) e JECC (jejum de 30 horas seguido de exercício e gavagem com água, análise após 40 e 60 minutos).

Os protocolos experimentais utilizados com os animais foram submetidos e aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal do IB-UNICAMP – (Protocolo 638-1).

Protocolo de exercício exaustivo

Utilizamos o protocolo de treinamento proposto por Nikolovski *et al.*, (1996), com algumas modificações. Os animais permaneceram em jejum por 30 horas, sendo pesados imediatamente antes do exercício de natação. Colocou-se um peso equivalente a 10% da massa corporal numa mochila, fixando-o no tórax dos animais, que nadaram individualmente em um tanque plástico numa temperatura de 37°C por cerca de 5 minutos até a exaustão, definida no momento em que os animais permaneciam submersos por 10 segundos (McArdle & Montoye, 1966). Imediatamente após o exercício foram feitas a gavagem com água (JEA) ou 0,7 g/kg peso corporal de caldo de cana (JECC). Os animais desses grupos se recuperavam nas gaiolas sem acesso à comida e água por 40 e 60 minutos até serem sacrificados.

Retirada das amostras de tecidos

Os ratos no repouso ou no período de recuperação pós-exercício foram sacrificados por deslocamento cervical e os tecidos foram imediatamente

retirados. Os tecidos analisados foram os músculos gastrocnêmio branco, gastrocnêmio vermelho, sóleo. E o fígado. Esses músculos possuem diferentes capacidades oxidativas e, conseqüentemente, predominância de diferentes tipos de fibras musculares: tipo I para o sóleo, tipo IIa para o gastrocnêmio vermelho e tipo IIb para o gastrocnêmio branco. Após a remoção, cada tecido foi imediatamente congelado em nitrogênio líquido. Todo o processo de retirada dos tecidos demorou aproximadamente 5 minutos, sendo que os tecidos foram retirados sempre na mesma ordem. Foram analisadas as pernas direita e esquerda.

Quantificação da concentração de glicogênio em pequenas amostras de tecido (Lo, et al, 1970)

Procedimentos:

- 1) Após as amostras dos tecidos serem retiradas, foram imediatamente transferidos para um tubo Eppendorf e colocados em nitrogênio líquido. Logo após foram colocados em um tubo de ensaio e pesados (50 – 90 mg). Após a pesagem dos tecidos os tubos foram mantidos no gelo.
- 2) Adicionou-se 500 µL de KOH 30% saturado com Na₂SO₄, sendo o tecido completamente imerso na solução. Os tubos foram cobertos com *parafilm* e levados ao banho-maria em água fervente por 30 minutos, até obter uma solução homogênea (digestão alcalina). Após, os tubos foram removidos do banho-maria e colocados no gelo até esfriar.
- 3) Adicionou-se 550 µL de etanol a 95% para precipitar o glicogênio resultante da digestão alcalina. As amostras foram deixadas no gelo por 30 minutos, sendo então centrifugadas a 3000 rpm por 30 minutos. O sobrenadante foi aspirado.
- 4) Dissolveu-se o precipitado em 3.0 mL de água nanopura (Milli-Q). Da solução obtida retirou-se 1 ml para outro tubo de ensaio e adicionou-se 1 mL da solução de Fenol 5% ao novo tubo.
- 5) Adicionou-se 5 mL de H₂SO₄ a 98% rapidamente sobre a superfície da amostra (10 a 20 segundos) tomando cuidado para não cair na borda do tubo,

assegurando uma boa mistura entre os dois. Reservou-se por 10 minutos. Após agitação, os tubos foram colocados para esfriar em água gelada por 10 minutos.

6) Leitura das amostras em Espectrofotômetro (modelo Beckman DU-2) com comprimento da onda a 490 nm. Como branco foi utilizada a mistura de 1 ml de água mais 1 ml de fenol 5% e 5 ml de H₂SO₄ 98%.

Todos os testes foram feitos em triplicata, a fim de minimizar erros.

Curva Padrão:

Para a padronização da técnica fizemos experimentos iniciais que constaram da determinação do espectro de absorção de uma solução de glicogênio em água 100 µg/ml (Figura 11A). E ainda a curva padrão obtida a partir do passo 5 descrito acima, empregando-se soluções de glicogênio com concentrações que variaram de 10 a 100 µg/ml. As médias das leituras de absorbância foram plotadas contra as respectivas concentrações de glicogênio adicionadas. Cada ponto é a média de três determinações (Figura 11B). O coeficiente angular desta curva padrão foi utilizado para a determinação da concentração do glicogênio nas amostras.

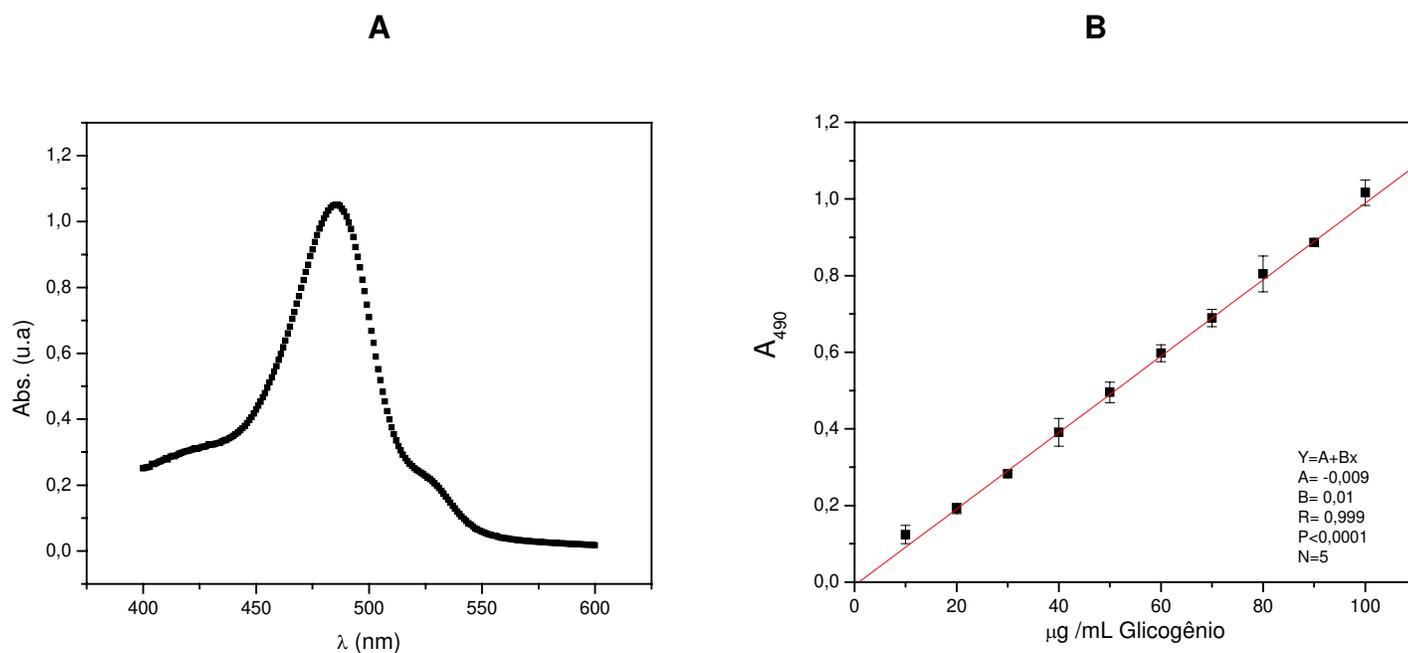


Figura 11. (A) Espectro de absorção de glicogênio em água (100µg/ml). (B) Curva padrão de glicogênio em água (10 a 100 µg/ml) dosado pela adição de fenol 5% em meio ácido. Cada ponto representa a média de três determinações.

O cálculo da concentração de glicogênio das amostras foi efetuado utilizando-se a equação abaixo:

$$C = (A_{490}/k) \times (V/v) \times (10^{-4}/w)$$

Onde:

C = concentração de glicogênio (g/100 g tecido)

A₄₉₀ = absorvância a 490 nm

k = coeficiente angular da curva padrão de glicogênio

V = volume total da amostra de glicogênio

v = volume da alíquota da amostra usada no ensaio

w = massa do tecido

A unidade g (glicogênio) / 100 g tecido foi transformada em mmol unidade glicosil / Kg tecido, uma vez que 1 grama de glicogênio / 100g de tecido equivale a 55,5 mmol unidade glicosil /Kg tecido (Passonneau, 1974).

Curva Glicêmica

Os ratos no repouso ou no período de recuperação pós-exercício receberam gavagem com 0,7 g/kg peso corporal de caldo de cana. A glicemia foi analisada através de aparelho portátil accutrend-Roche e tiras reativas específicas. A glicemia foi mensurada nos tempos 30, 40, 60, 80, 100 e 120 min.

Análise estatística

O programa Matlab 7.0 foi utilizado para as análises de comparação entre as medianas. Para a aceitação de diferenças estatisticamente significativas foi adotado o critério da não sobreposição dos intervalos de confiança da mediana de 95%.

RESULTADOS

Concentração de glicogênio após jejum de 30 h na ausência ou presença de exercício intenso

A Figura 12 apresenta os dados das concentrações de glicogênio no fígado (A) e nos músculos sóleo (B), gastrocnêmio vermelho (C) e gastrocnêmio branco (Figura D) nos animais do grupo controle (CO), comparado com os animais do grupo jejum 30 h (J) e jejum + exercício intenso (JE).

Considerando a diferença de valores na escala do eixo y, a comparação entre os tecidos dos animais do grupo controle mostrou que, como esperado, as concentrações de glicogênio hepático são muito maiores que a dos músculos analisados. Já as concentrações de glicogênio nos diferentes músculos possuem valores muito próximos entre si. Entre eles, o músculo gastrocnêmio branco apresentou a maior quantidade de glicogênio no repouso.

Após 30 horas de jejum houve depleção significativa somente dos estoques de glicogênio hepático ($P < 0,05$). Nessa condição houve uma diminuição nos valores da mediana dos músculos sóleo e gastrocnêmio vermelho (Figura 1B e 1C), mais pronunciada que no músculo gastrocnêmio branco (Figura 1D).

Quando o jejum foi associado ao exercício exaustivo (JE) os estoques de glicogênio caíram significativamente somente nos músculos com predominância de fibras do tipo II (Figuras 1C e 1D) ($P < 0,05$).

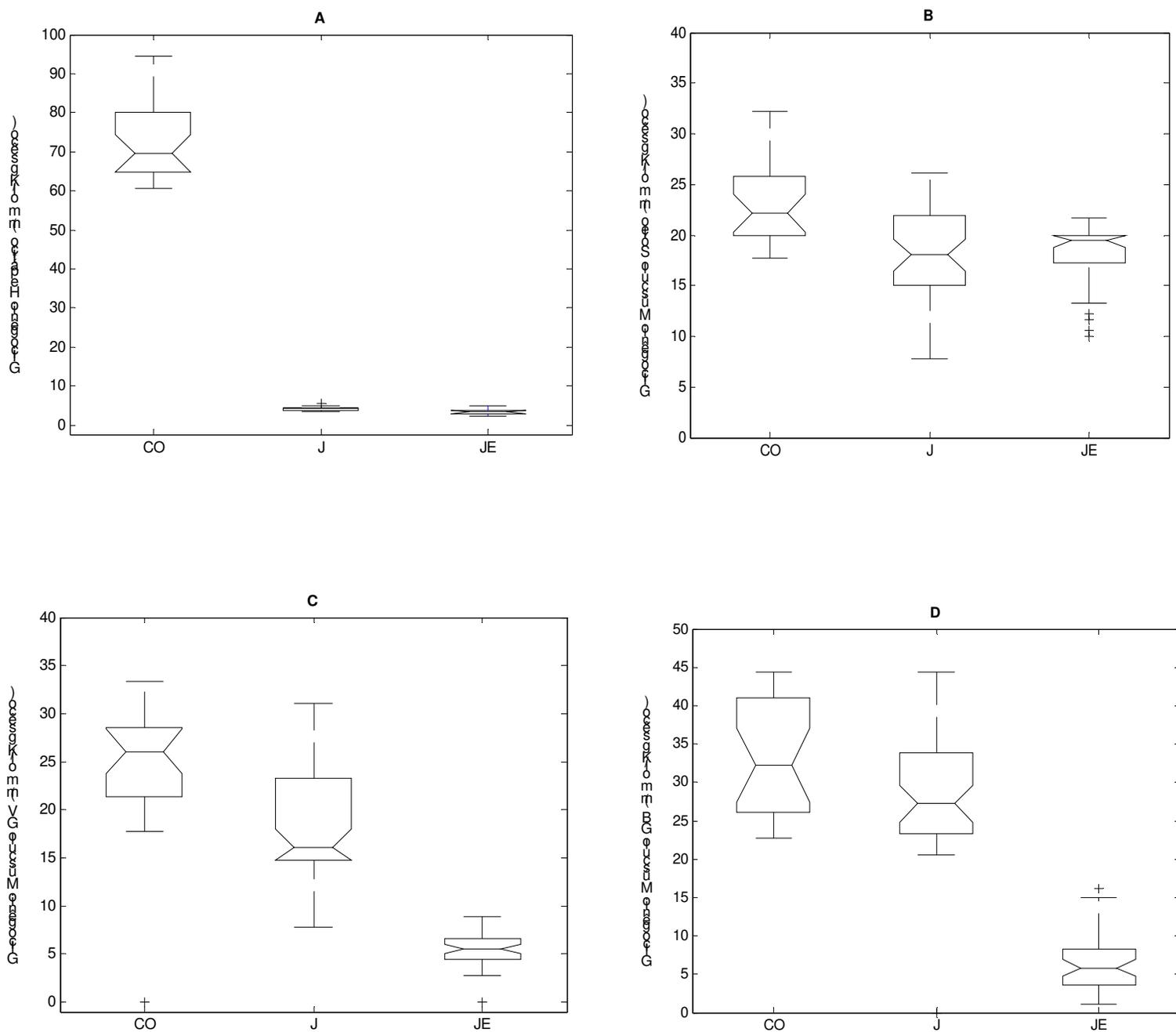


Figura 12. Efeito do jejum de 30 hs na ausência (J) ou presença (JE) de exercício sobre as concentrações de glicogênio hepático (A), do músculo sóleo (B), gastrocnêmio vermelho (C) e gastrocnêmio branco (D). Percentis (▲) 99% (▼) 1% (■) média dos dados.

Concentração de glicogênio após gavagem com água

A Figura 13 apresenta os dados sobre as concentrações de glicogênio quando os animais receberam água por gavagem estomacal (JEA) imediatamente após o exercício, analisados 40 e 60 minutos após a gavagem.

Na ausência de suplementação as concentrações de glicogênio do fígado e do músculo sóleo não se alteraram após 40 ou 60 minutos de recuperação. No músculo sóleo houve, inclusive, uma diminuição nos valores da mediana após esse período. Já a mediana dos valores de glicogênio dos músculos gastrocnêmio vermelho e branco aumentou em relação ao grupo JE, com 50% dos dados acima dos 100% dos valores do grupo JE após 40 e 60 minutos de recuperação.

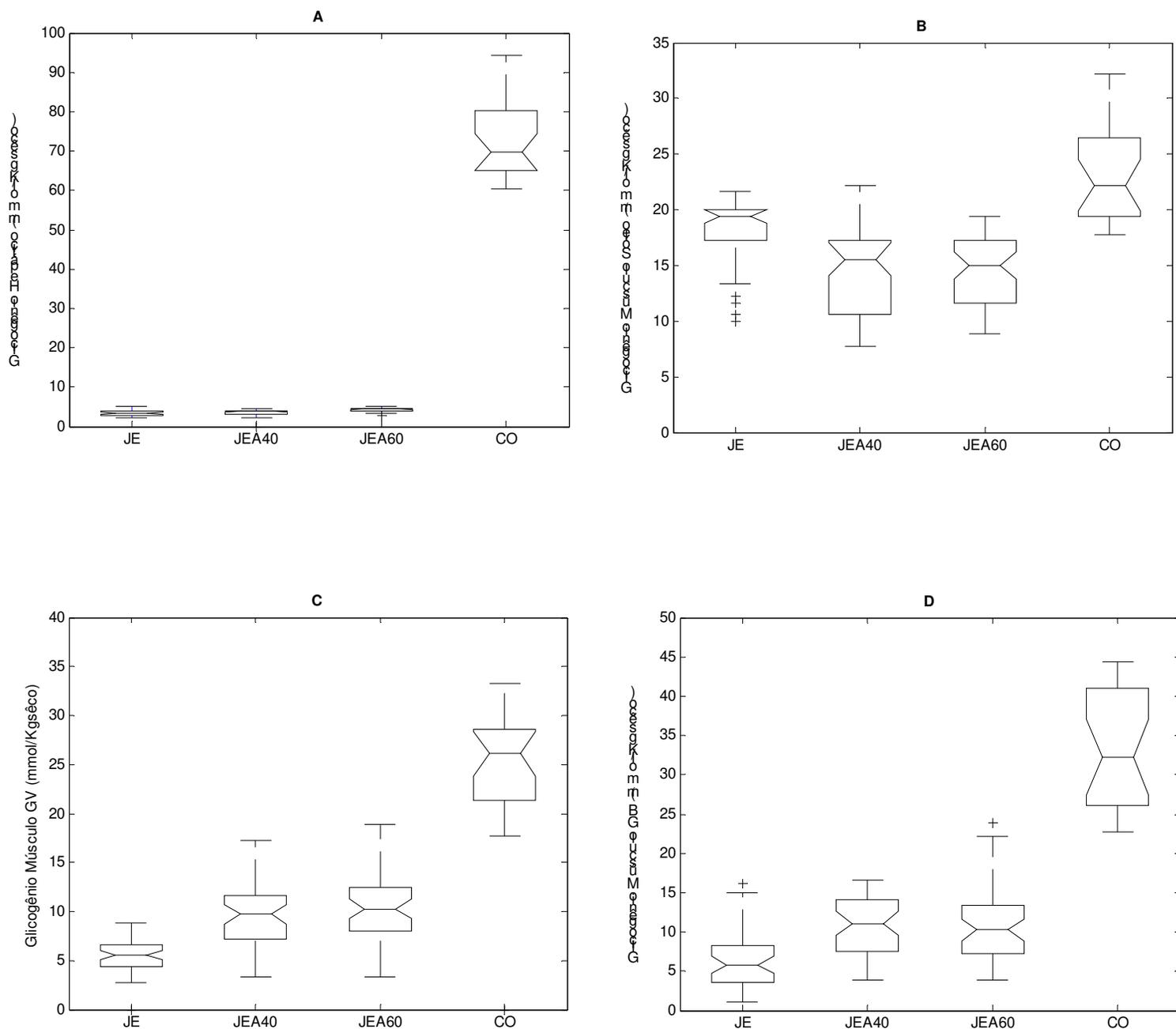


Figura 13 – Efeito da gavagem estomacal com água (A) na ressíntese de glicogênio hepático (A) e dos músculos sóleo (B), gastrocnêmio vermelho (C) e gastrocnêmio branco (D) após 40 e 60 minutos de recuperação de exercício exaustivo. JE foi colocado como grupo controle. Os dados do grupo CO também foram colocados para comparação. Percentis (▲) 99% (▼) 1% (■) média.

Concentração de glicogênio após gavagem com caldo de cana

A Figura 14 apresenta os dados sobre as concentrações de glicogênio quando os animais receberam caldo de cana por gavagem estomacal (JECC) imediatamente após o exercício sobre os estoques de glicogênio, analisados 40 e 60 minutos após a suplementação.

O glicogênio hepático do grupo JECC aumentou significativamente em relação ao grupo JE, principalmente após 60 minutos. No entanto, comparativamente ao grupo CO a reposição foi muito pequena. O conteúdo de glicogênio do músculo sóleo apresentou um ligeiro aumento após 40 ou 60 minutos de ingestão do caldo de cana, com a maior parte dos valores mais próximos do grupo controle.

A reposição foi mais pronunciada nos músculos cujos estoques de glicogênio foram mais depletados pelo exercício (Figuras 14C e 14D). Observou-se aumento significativo nas concentrações de glicogênio dos músculos gastrocnêmio vermelho e branco em relação aos grupos JE e JEA60 após 40 e 60 minutos da ingestão de caldo de cana imediatamente após o término do exercício.

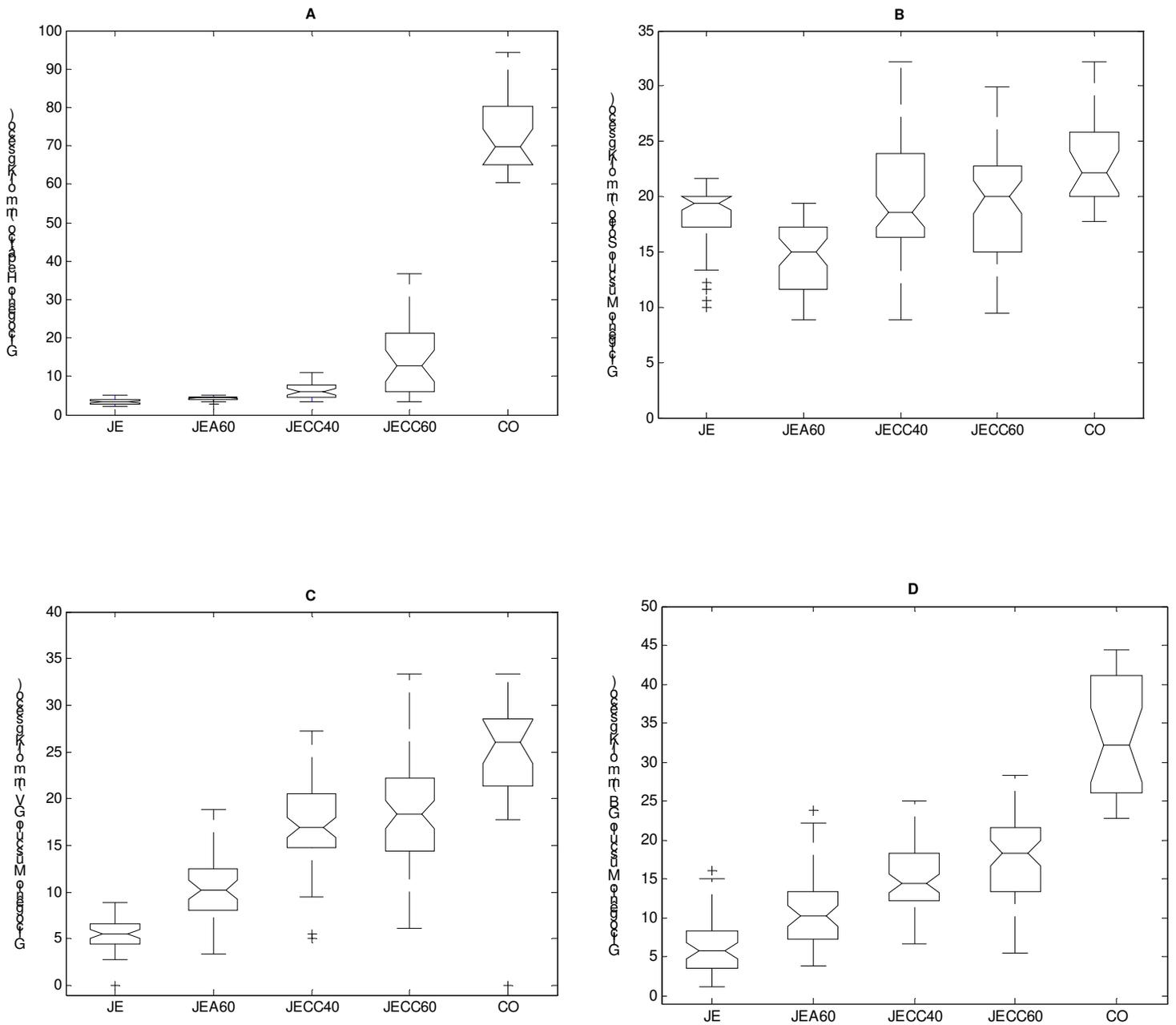


Figura 14 – Efeito da gavagem estomacal com caldo de cana (CC) na ressíntese de glicogênio hepático (A) e dos músculos sóleo (B), gastrocnêmio vermelho (C) e gastrocnêmio branco (D) após 40 e 60 minutos de recuperação de exercício exaustivo. JE e JE60 foram colocados como grupo controle exercício. Os dados do grupo controle também foram colocados para comparação. Percentis (▲) 99% (▼) 1% (■) média.

Curva glicêmica com caldo de cana na ausência ou presença de exercício

A Figura 4 mostra a curva glicêmica dos animais suplementados com caldo de cana na presença ou ausência de exercício prévio.

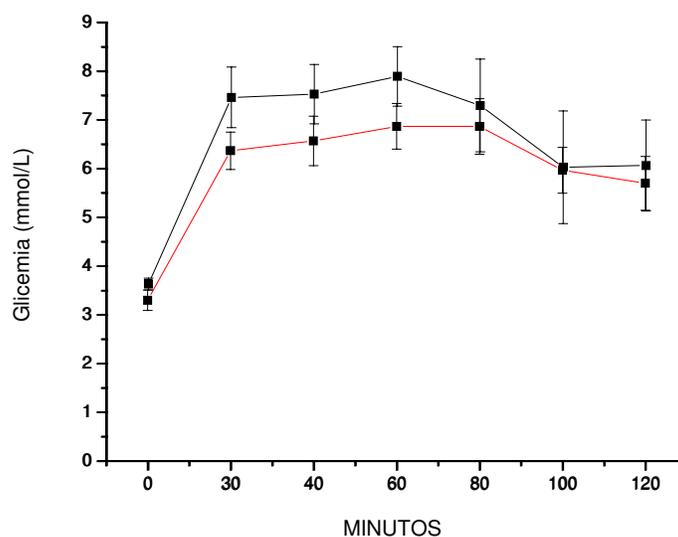


Figura 15. Curva glicêmica com caldo de cana. Caldo de cana pós-exercício (vermelho), caldo de cana sem exercício (preto).

O aumento na glicemia no grupo previamente exercitado foi sempre menor quando comparado com o grupo de animais que não fez exercício.

Efeito do caldo de cana sobre os níveis de alteração muscular pós-exercício exaustivo

A Figura 5 mostra a concentração plasmática da enzima creatina quinase (CK) em diferentes tempos pós-exercício (3, 6, 24 e 48 h) na ausência (NS) ou presença (S) de suplementação com caldo de cana (0,7g/kg peso).

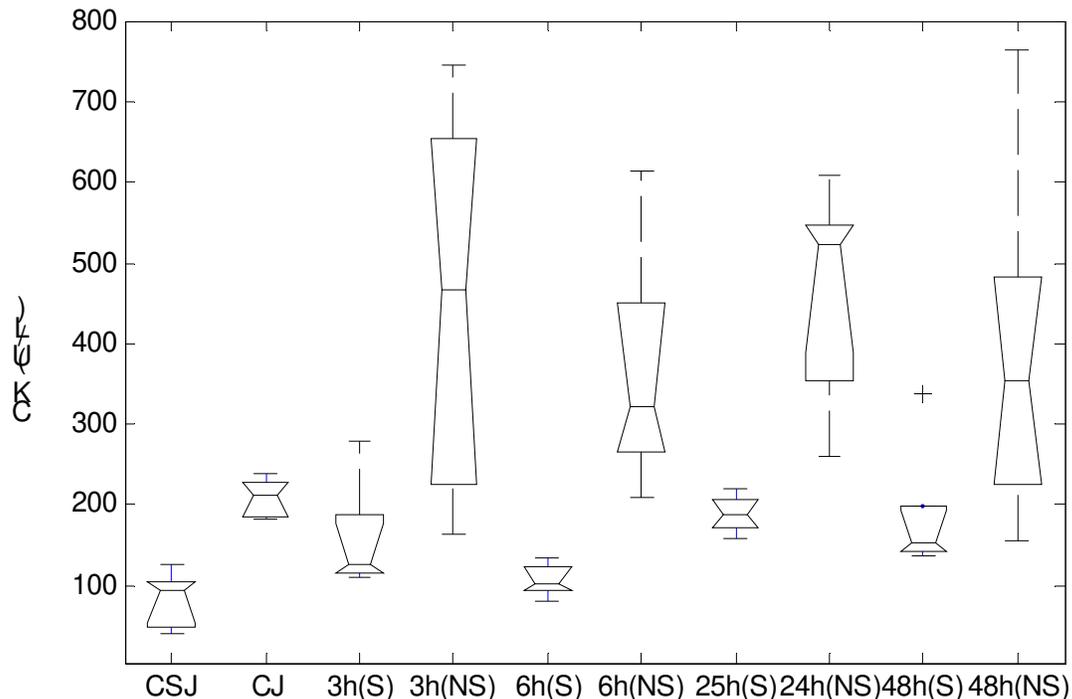


Figura 12. Atividade plasmática da enzima creatina quinase (CK) em diferentes tempos pós protocolo de exercício exaustivo na ausência (NS) ou presença (S) de suplementação com caldo de cana. Amostras de sangue foram coletadas dos animais após 3, 6, 24 e 48 hs de recuperação do exercício. Grupo controle sem exercício e jejum (CSJ), grupo jejum 30 hs (CJ). n=5

O grupo NS exibiu aumento na permeabilidade muscular mesmo após 48 h de recuperação com alimentação *ad libitum*, com uma grande variabilidade na resposta intra-grupo. O grupo suplementado com caldo de cana imediatamente após o exercício apresentou valores de atividade plasmática da CK próximos aos valores do grupo controle, com uma grande homogeneidade na resposta.

DISCUSSÃO

Nossos dados mostraram que o jejum de 30 h na ausência de exercício foi suficiente para depletar significativamente somente os estoques de glicogênio hepático. Estes dados contradizem os obtidos por Holness & Sugden (1991), que observaram que um período de 24 horas de jejum era suficiente para diminuir o glicogênio muscular e hepático para níveis baixos e estáveis. A pequena queda na concentração de glicogênio dos músculos sóleo e gastrocnêmio vermelho após o jejum de 30 h sugere que durante esse período os animais estiveram ativos na gaiola, uma vez que exercícios de baixa intensidade recrutam fibras do tipo I e IIa, predominantemente.

Por outro lado, o protocolo de exercício utilizado induziu depleção de glicogênio somente nos músculos com predominância de fibras do tipo II, caracterizando o exercício como de alta intensidade. Esses dados estão em concordância com resultados da literatura, que também não observaram depleção significativa no músculo sóleo após exercício intenso precedido de jejum de 24 hs (Nikolovski *et al.*, 1996).

As fibras tipo IIb são recrutadas somente em exercícios intensos. Esse fato, e o aumento na atividade plasmática da CK mesmo após 48 h de recuperação do exercício nos animais do grupo não suplementado corrobora a alta intensidade empregada no exercício. Este é um protocolo de exercício bastante interessante, uma vez que sua execução dura cerca de 5 minutos, podendo ser utilizado de uma maneira rápida, ou dessa forma, ou com algumas alterações, para o estudo de adaptações agudas induzidas pelo exercício intenso em inúmeros parâmetros metabólicos, permitindo uma ampla correlação de dados.

Nossos resultados confirmaram que ratos que se recuperam de exercícios intensos mesmo sem a ingestão de alimentos são capazes de repor uma pequena parte do seu glicogênio muscular, particularmente nos músculos mais depletados (Nikolovsky *et al.*, 1996). Este fato também foi reportado em músculos de humanos, peixes, répteis e anfíbios, embora a extensão da reposição pareça diferir entre as espécies (Fournier *et al.*, 2002). É importante

ressaltar que nos ratos, a gliconeogênese a partir do lactato acontece somente nas fibras rápidas, e é altamente dependente da concentração de lactato (Donovan & Pagliassotti, 2000). No entanto, não podemos afirmar que a fonte de carbono para a síntese de glicogênio nas nossas condições experimentais seja o lactato, embora sua concentração plasmática fique próxima dos valores basais após 40 minutos de recuperação (dados não mostrados).

Os resultados apresentados nesse estudo mostraram que a suplementação com caldo de cana foi eficiente em aumentar os estoques de glicogênio muscular após 1 h de recuperação, principalmente nos músculos que foram mais depletados, sugerindo uma ativação da fase rápida de reposição de glicogênio pelo caldo de cana. Essa interpretação é reforçada pela curva glicêmica após o exercício, quando a glicemia nos animais que fizeram o exercício previamente atinge concentrações menores até 60 minutos. Mais importante ainda, nossos dados mostraram um efeito protetor do caldo de cana sobre as alterações musculares induzidas pelo exercício (Figura 16), conferindo uma maior resistência muscular durante a recuperação.

Os resultados apresentados na parte I da presente tese mostraram que o consumo de caldo de cana por jogadores de futebol pós-treino ou jogos levou a uma diminuição da formação de uréia, catabólito proveniente da proteólise muscular, associada a uma diminuição na atividade plasmática da CK ao longo do período competitivo. Esses dados já sugeriam uma ação ergogênica importante do caldo de cana. Os resultados apresentados neste estudo confirmaram essa ação ergogênica. Nossos dados também mostraram claramente que após uma atividade física que resulte em uma depleção significativa das reservas endógenas de carboidratos, a restauração do glicogênio muscular é prioritária (Kimber et al., 2003), uma vez que os estoques de glicogênio muscular se mantinham muito baixos após 1 h de recuperação.

Na prática, normalmente são utilizadas soluções de monossacarídeos ou de amidos, como a maltodextrina em diluições apropriadas para a reposição do glicogênio pós-treino. A idéia de substituir essas bebidas por caldo de cana de

açúcar deve-se ao fato deste ser um tipo de alimento muito comum no Brasil e ter em sua composição média 65% a 75% de água, e possuir uma alta concentração de sacarose, que corresponde a 70% a 91% de seus sólidos solúveis. A cana também contém glicose (de 2% a 4%), frutose (de 2% a 4%), sais minerais (3% a 5%), proteínas (0,5% a 0,6%), amido (0,001% a 0,05%), ceras e lipídios (0,05% a 0,15%), corantes (principalmente compostos polifenólicos) (3% a 5%), vitaminas do complexo B e ascorbato (Franco, 2001)

É importante destacar ainda que o consumo de caldo de cana pós-treinos e/ou jogos foi muito bem aceito por todos os jogadores, diferente do observado quando do consumo de outras bebidas com carboidratos (observação pessoal). Apesar de existirem no mercado soluções de maltodextrina enriquecidas com vitaminas e minerais, as vantagens do caldo de cana estão no fato de ser um produto de fácil obtenção e principalmente de baixo custo, ideal para as condições socioeconômicas dos atletas nacionais.

PERSPECTIVAS

Esse estudo abriu grandes perspectivas para o uso do caldo de cana como um recurso ergogênico. O próximo passo dentro dessa linha de pesquisa do Labex será analisar a eficiência da suplementação do caldo de cana em comparação com outros suplementos energéticos utilizados no mercado para a reposição de glicogênio muscular, e desenvolver o processo de secagem do caldo de cana, com o objetivo de transformá-lo em pó, permitindo seu uso em qualquer localização e com higiene.

Após a obtenção do pó pretendemos analisar o efeito de diluições apropriadas desse pó sobre os estoques de glicogênio muscular. Essa etapa de desenvolvimento do produto está sendo feita em parceria com a Profa. Dra. Flavia Maria Netto, da Faculdade de Engenharia de Alimentos e está no seu início, sob responsabilidade da bolsista de IC Ana Carolina Normand, e também fará parte da minha tese de doutorado.

Conclusões

O caldo de cana é um alimento natural, energético e dispõe de vários nutrientes em sua composição. Possui sabor agradável, sendo de fácil aceitação pela maioria das pessoas. É um produto genuinamente nacional e abundante no Brasil, portanto de baixo custo.

O caldo de cana repõe eficientemente os estoques de glicogênio muscular e promove maior proteção à musculatura, se constituindo numa alternativa a outras bebidas com carboidratos do mercado.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adamo, KB, Tarnopolsky, MA., Graham, TE. (1998). Dietary carbohydrate and postexercise synthesis of proglycogen and macroglycogen in human skeletal muscle. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 275: E229-E234.
- Alonso, MD., Lomako, J., Lomako WM, et al. (1995). A new look at the biogenesis of glycogen. *FASEB J*, 9 (12): 1126-37.
- Astrand, PO., Rodahl, K. (1986) In: Textbook of work physiology: Physiological bases of exercise. McGraw-Hill, New York.
- Balsom, PD., Seger, JY., Sjodin, B., Ekblom, B. (1992). Maximal-intensity intermittent exercise: effect of recovery duration. *Int J Sports Med.* 13(7): 528-33.
- Bangsbo, J. (1994). The physiology of soccer. *Acta Physio. Scand.* 151.
- Blom, PCS., Hostmark, AT., Vaage, O, et al. (1987). Effect of different post-exercise sugar diets on the rate of glycogen synthesis. *Med Sci Sports Exerc*, 19 (5): 491-6.
- Bompa, T.O. Periodização: teoria e metodologia do treinamento. São Paulo, Phorte Editora, 2002.
- Brodal, B., and K. Hjelle. (1990). Synthesis of phosphoenolpyruvate from pyruvate in rat skeletal muscle. *Int. J. Biochem.* 22:753-758.
- Brojer, J., Jonasson, R., Schuback, K., Essen-Gustavsson, B. (2002). Pro- and macroglycogenolysis in skeletal muscle during maximal treadmill exercise. *Equine Vet J Suppl. Sep*; (34): 205-8.
- Bruin, G., Kuipers, H., Keizer, H.A., Vander Vusse, G.J. (1994) Adaptation and overtraining in horses subjected to increasing training loads. *J. Appl. Physiol.* 76 (5): 1908-1913.
- Cartee, GD., Young, DA., Sleppey, MD, et al. (1990). Prolonged increase in insulin-stimulated glucose transport in muscle after exercise. *Am J Physiol*, 256: E494-9.
- Casey, A., Mann, R., Banister, K, et al. (2000). Effect of carbohydrate ingestion on glycogen resynthesis in human liver and skeletal muscle, measured by ¹³C MRS. *Am J Physiol*, 278: E65-75.
- Conlee, RK., Lawler, RM., Ross, PE. (1987). Effects of glucose or fructose feeding on glycogen repletion in muscle and liver after exercise or fasting. *Ann Nutr Metab*, 31: 126-32.
- Costill DL. (1988). Carbohydrates for exercise: dietary demands for optimal performance. *Int J Sports Med.* 9(1):1-18.
- Costtil, DL. (1986) Inside running: Basics of sports physiology. Indianapolis: Benchmark Press.

- Derave, W., Gao, S., Richter, EA. (2000). Pro-and macroglycogen in contracting rat skeletal muscle. *Acta Physiol Scand*, 169, 291-296.
- Dohm, G.L., Williams, R.T., Kasperek, G.J., Van Rij, A.M. (1982). Increased excretion of urea and *N*-methylhistidine by rats and humans after a bout of exercise. *J Appl Physiol*. 52: 27-33.
- Donovan, C. M. and Pagliassotti, M J. (2000). Quantitative assessment of pathways for lactate disposal in skeletal muscle fiber types. *Med. Sci. Sports Exerc.*, 32(4): 772–777.
- Fournier, PA., Bräu, L., Ferreira, B., Fairchild, T., Raja, G., James, A., Palmer, TN. (2002) Glycogen resynthesis in the absence of food ingestion during recovery from moderate or high intensity physical activity: novel insights from rat and human studies. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol.*, 133(3):755-63.
- Franco, G. (2001). Tabela de Composição Química dos Alimentos. 9a ed., São Paulo, Editora Atheneu.
- Friedman JE, Neuffer PD, Dohm GL. (1991). Regulation of glycogen resynthesis following exercise. Dietary considerations. *Sports Med*. 11(4):232-43.
- Fry, R.W., Morton, A.R., Keast, D. (1992) Periodization of training stress - a review. *Can. J. Sports and Sci*. 17(3): 234-240.
- Fujisawa, T., Mulligan, K., Wada, L, et al. (1993). The effect of exercise on fructose absorption. *Am J Clin Nutr*, 58 (1): 75-9.
- Gaitanos, G. C. (1993). Human muscle metabolism during intermittent maximal exercise. *J. Appl. Physiol*. 75: 712-719.
- Gladden, L.B. (2004). Lactate metabolism: a new paradigm for the third millennium. *J. Physiol.*, 558(1):5-30.
- Goforth, HW., Arnall, DA. Jr., Bennett, BL., Law, PG. (1997). Persistence of supercompensated muscle glycogen in trained subjects after carbohydrate loading. *J. Appl. Physiol*. 82: 342-347.
- González-Gross, M., Gutiérrez, A., Mesa, LM. (2001). La nutrición en la práctica deportiva: Adaptación de la pirámide nutricional a las características de la dieta del deportista. *Archivos Latinoamericanos de Nutricion*. 51(4): 321-331
- Goodyear, LJ., Hirshman, MF., King, PA, et al. (1990). Skeletal muscle plasma membrane glucose transport and glucose transporters after exercise. *J Appl Physiol*, 68: 193-8.
- Grandjean, AC. (1997). Diets of Elite Athletes: Has the Discipline of Sportes Nutrition Made an Impact? *J. Nutr*. 127: 874S-877S.
- Hansen, BF., Derave, W., Jensen, P., Richter, EA. (2000). No limiting role for glycogenin in determining maximal attainable glycogen levels in rat skeletal muscle. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 278: E398-E404.

- Hargreaves, M., Finn, RT., Withers, JA., Halbert, GC., Scroop, M., Mackay, RJ., Snow, Carey, MF. (1997). Effect of muscle glycogen availability on maximal exercise performance. *Eur. J. Appl. Physiol.* 75: 188-192.
- Hatta, H., Atomi, Y., Yamamoto, Y., Chinohara, S., Yamada, S. (1988) Oxidation of lactate in rats after short-term strenuous exercise. *Int. J. Sports Med.*, 9:429-432.
- Hawley, JA., Dennis, SC., Lindsay, FH., Noakes, TD. (1995) Nutritional practices of athletes: are they sub-optimal? *J. Sports. Sci.*, :S75-81.
- Henry, RR., Crapo, PA., Thorburn, AW. (1991). Current issues in fructose metabolism. *Annu Rev Nutr*, 11: 21-39.
- Holness, MJ., Sugden, MC. (1991). Glucose disposal by skeletal muscle in response to re-feeding after progressive starvation. *Biochem. J.* 277 (2): 429-33.
- Horn, LV. (2000) Position of the American Dietetic Association, Dietitians of Canada, and the American College of Sports Medicine: Nutrition and athletic performance. *J. Am Diet. Assoc.* 100:1543-1556.
- Ivy, JL. (1991) Muscle glycogen synthesis before and after exercise. *Sports Med*, 11:6-84.
- Ivy, JL. (1999) Role of carbohydrate in physical activity. *Clin. Sports Med.*, 18(3): 496-84.
- Ivy, JL., Katz, AL., Cutler, CL. et al. (1988) Muscle glycogen synthesis after exercise: effect of time of carbohydrate ingestion. *J Appl Physiol*, 64 (4): 1480-1485.
- Jenkins, DG., Palmer, J., Spillman, D. (1993). The influence of dietary carbohydrate on performance of supramaximal intermittent exercise. *Eur. J. Appl. Physiol.* 67: 309-314.
- Jentjens, R., Jeukendrup, AE. (2003). Determinants of Post-Exercise Glycogen Synthesis During Short-Term Recovery. *Sports Med*, 33(2): 117-144.
- Kemp G. Lactate accumulation, proton buffering, and pH change in ischemically exercising muscle. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 289: R895–R901, 2005.
- Kiens, B., Richter, EA. (1998) Utilization of skeletal muscle triacylglycerol during postexercise recovery in humans. *Am J Physiol*, 275: E332-7.
- Kimber NE, Heogenhauser, GJF, Spriet L.L., Dyck DJ (2003). Skeletal muscle fat and carbohydrate metabolism during recovery from glycogen-depleting exercise in humans. *J. Physiol.* 548:919-927.
- Kuipers, H. (1998) Training and overtraining: an introduction. *Med. Sci. Sports Exerc.* 30 (07): 1137-1139.

- Kuipers, H., Keizer, H.A. (1998) Overtraining in elite athletes: review and directions for the future. *Sports Med.* 6: 79-92.
- Lindinger MI, Kowalchuk JM, and Heigenhauser GJF. (2005). Applying physicochemical principles to skeletal muscle acid-base status *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 289: R891–R894.
- Lo, S., Russell, JC., Taylor, AW. (1970) Determination of glycogen in small tissue samples. *J. Appl. Physiol.* 28(2): 234-236.
- Lomako, JW., Lomako, Whelan, W., Dombro, R., Neary, J. and Norenberg, M. (1993) Glycogen synthesis in the astrocyte: from glycogenin to proglycogen to glycogen. *FASEB J.* 7: 1386-1393.
- Lomako, JW., Lomako, Whelan, WJ. (1991) Proglycogen: a low molecular weight form of muscle glycogen. *FEBS Lett.* 279: 223-228.
- Lomako, JWM., Lomako, Whelan, WJ. (1990) The nature of the primer for glycogen synthesis in muscle. *FEBS Lett.* 268: 8-12.
- Ludwig, DS. (2000). Dietary Glycemic Index and Obesity. *J. Nutr.* 130: 280S-283S.
- Maclaren, DPM., Gibson, B., Parry-Billings, M., Edwards, RHT. (1989). A review of metabolic factors in fatigue. *Exerc Sports Sci Exerc Sports Sci Rev* ; 17: 29-68.
- Maehlum, S., Hostmark, AT., Hermansen, L. (1977). Synthesis of muscle glycogen during recovery after prolonged severe exercise in diabetic and non-diabetic subjects. *Scand J Clin Lab Invest*, 37: 309-16.
- Mcardle, WD., Montoy, HJ. (1966) Reliability of exhaustive swimming in the laboratory rat. *J. Appl. Physiol.* 21 (4): 1431-1434.
- Mendolff, AI., Weichselbaum, TE. (1953). Role of the human liver in the assimilation of intravenously administered fructose. *Metabolism.* 2: 450-8.
- Nielsen, JN., Wojtaszewski, JFP. (2004). Regulation of glycogen synthase activity and phosphorylation by exercise. *Proc. Nutr. Soc.*, 63, 233-237.
- Nikolovski, S., Faulkner, DL., Palmer, TN., Fournier, PA. (1996). Muscle glycogen depletion from endogenous carbon sources during recovery from high intensity exercise in the fasted rat. *Acta Physiol Scand.* 157, 427-434.
- Paquot, N. (2001) L'alimentation du sportif. *Rev Med Liege.* 56(4):20-3.
- Passonneau, JV., Lauderdale, VR. (1974). A comparison of three methods of glycogen measurement in tissues. *Anal. Biochem.* 60:405-412.
- Petibois, C., Cazorla, G., Poortmans, J.R., Deleris, G. (2003) Biochemical aspects of overtraining in endurance sports. *Sports Med.* 33: .83-94.
- Pette D, Staron RS. (1990) Glycogen and lactate metabolism during low-intensity exercise in man. *Acta Physiol Scand.* 139 (3): 475-84.

- Philippi, ST., Szarfarc, SC., Laterza, AR. (1996). Virtual Nutri [software], versão 1.0, for Windows. Departamento de Nutrição/Faculdade de Saúde Pública/ USP. São Paulo.
- Platen., P. (2002). Overtraining and the Endocrine System—Part 1: Terminology. *European Journal of Sport Science*, vol. 2, issue 1.
- Price TB., Rothman, DL., Taylor, R, et al. (1994). Human muscle glycogen resynthesis after exercise: insulin-dependent and -independent phases. *J Appl Physiol*, 76: 104-11.
- Reilly, T. (1997). Energetics of hig-intensity exercise (soccer) with particular reference to fatigue. *J. Sports Sci.* 15: 257-263.
- Reiser PJ, Moss RL, Giulian GG, Greaser ML. (1985). Shortening velocity in single fibers from adult rabbit soleus muscles is correlated with myosin heavy chain composition. *J Biol Chem.* 260(16):9077-80.
- Robergs, RA. (1991) Nutrition and exercise determinants of postexercise glycogen synthesis. *Int. J. Sport. Nutr.* 1(4): 307-37.
- Robergs, RA. (2001). Exercise-induced metabolic acidosis: Where do the protons come from? *Sport Science.* 5 (2): 1- 20.
- Robergs, RA., Ghiasvand, F. and Parker D. Lingering construct of lactic acidosis. (2005). *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 289: 904-910.
- Robergs, RA., Ghiasvand, F., Parker, D. (2004). Biochemistry of exercise-induced metabolic acidosis. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 287 (3): R502-16.
- Rosenvold, K., Gustavsson, BE., Andersen, HJ. (2003). Dietary manipulation of pro- and macroglycogen in porcine skeletal muscle. *J. Anim. Sci.*, 81:130-134.
- Sahlin, K. (1986). Metabolic changes limiting muscle performance. In: Biochemistry of exercise VI, ed. B. Saltin, pp. 323-343. Champaign, IL: Human Kinetics.
- Saltin, B. (1973). Metabolic fundamentals in exercise. *Med. Sci. Sports.* v.5, 137-146.
- Sayers SP, and Clarkson, PM. (2003). Short-term immobilization after eccentric exercise. Part II: creatine kinase and myoglobin. *Med Sci Sports Exerc* 35(5):762-768.
- Stone, M.H. Keith, R.E., Kearney, J.T., Fleck, S.J., Wilson, G.D., Triplett, N.T. (1991) Overtraining: a review of the signs, symptoms and possible causes. *J. Appl. Sport Sci. Res.* v.5, p.35-50.
- Thomason, DB., Baldwin, KM., Herrick, RE. (1986). Myosin isozyme distribution in rodent hindlimb skeletal muscle. *J Appl Physiol.* 60 (6):1923-31.

Van den Bergh, AJ., Houtman, S., Heerschap, A, et al. (1996). Muscle glycogen recovery after exercise during glucose and fructose intake monitored by ¹³C-NMR. *J Appl Physiol*, 81 (4): 1495-500.

Veech, RL., Lawson, JWR., Cornell, NW., Krebs, HA. (1979). Cytosolic phosphorylation potential. *J. Biol. Chem.*, 254 (14): 6538-6547.

Wilmore, Jh., Costill, DL. (2001). Physical energy: Fuel metabolism. *Nutr. Rew.* 59: S13-6.

Wojtaszewski, JF., Hansen, BF., Gade, J, et al. (2000). Insulin signalling and insulin sensitivity after exercise in human skeletal muscle. *Diabetes.* 49 (3): 325-31.

PUBLICAÇÕES

Capítulo de livro:

Denise Vaz de Macedo, Fernanda Lorenzi Lazarim e Mirtes Stancanelli. Importância de estoques adequados de glicogênio muscular para a atividade física. In: Tratado sobre Recursos Ergogênicos. Editora Shape, Rio de Janeiro, 1^a Edição, previsto para ser publicado no segundo semestre de 2006.

COMUNICAÇÕES EM CONGRESSOS

Stancanelli, M., Passos, AM., Normand, C., Netto, FM., Macedo, DV. (2004) Efeito da ingestão de caldo de cana nos estoques de glicogênio muscular após exercício intenso agudo em ratos. VIII Congresso Intenacional de Atividades Físicas do Rio de Janeiro. – **PREMIAÇÃO: Primeiro lugar como melhor pôster.**

Stancanelli, M., Passos, AM., Normand, C., Netto, FM., Alves, AA., Macedo, DV (2005) Caldo de cana como repositores de glicogênio muscular. VII Congresso Nacional da SBAN – São Paulo. Brasil.

Stancanelli, M., Passos, AM., Normand, C., Netto, FM., Macedo, DV (2005) Effects of sugar cane juice ingestion on the restoration of muscular and liver glycogen stores following exhaustive exercise in rats. XXXIV Reunião Annual da Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular. Águas de Lindóia.

Stancanelli, M., Passos, AM., Normand, C., Netto, FM., Alves, AA., Macedo, DV (2005) Caldo de cana como repositores de glicogênio muscular. 3^o CPNutri - Congresso Paulista de Nutrição. São Paulo.

PREMIAÇÃO: Primeiro lugar como melhor pôster.