

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE GENÉTICA E BIOQUÍMICA
PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E BIOQUÍMICA

MON
612:766.1
C289a
TES/MEU

**AVALIAÇÃO DA SUPLEMENTAÇÃO, DO PERFIL NUTRICIONAL E DOS
BIOMARCADORES SALIVARES EM UM TESTE DE ESFORÇO EM
CICLOERGÔMETRO COM JOGADORES DE FUTEBOL PROFISSIONAIS**

Aluna: Juliana Hubaide Carneiro

Orientador: Foued Salmen Espíndola

SISBI/UFU



1000221717

UBERLÂNDIA – MG

2005

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE GENÉTICA E BIOQUÍMICA
PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E BIOQUÍMICA

**AVALIAÇÃO DA SUPLEMENTAÇÃO, DO PERFIL NUTRICIONAL E DOS
BIOMARCADORES SALIVARES EM UM TESTE DE ESFORÇO EM
CICLOERGÔMETRO COM JOGADORES DE FUTEBOL PROFISSIONAIS**

Aluna: Juliana Hubaide Carneiro

Orientador: Foued Salmen Espíndola

Dissertação apresentada à Universidade
Federal de Uberlândia para obtenção do
título de Mestre em Genética e Bioquímica

UBERLÂNDIA – MG

2005

FICHA CATALOGRÁFICA

C289a Carneiro, Juliana Hubaide, 1978-

Avaliação da suplementação, do perfil nutricional e dos biomarcadores salivares em um teste de esforço em cicloergômetro com jogadores de futebol profissionais / Juliana Hubaide Carneiro. - Uberlândia, 2005. 83f. : il.

Orientador: Foued Salmen Espíndola.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia, Programa de Pós-Graduação em Genética e Bioquímica.

Inclui bibliografia.

1. Exercícios físicos - Aspectos fisiológicos - Teses. 2. Limiar anaeróbico - Teses. 3. Ácido láctico - Teses. 4. Proteínas salivares - Teses. 5. Jogadores de futebol - Teses. I. Espíndola, Foued Salmen. II. Universidade Federal de Uberlândia. Programa de Pós-Graduação em Genética e Bioquímica. III. Título.

CDU: 796.012.6:612 (043)

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE GENÉTICA E BIOQUÍMICA
PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E BIOQUÍMICA

TÍTULO: AVALIAÇÃO DA SUPLEMENTAÇÃO, DO PERFIL NUTRICIONAL E DOS BIOMARCADORES SALIVARES EM UM TESTE DE ESFORÇO EM CICLOERGÔMETRO COM JOGADORES DE FUTEBOL PROFISSIONAIS

ALUNO: JULIANA HUBAIDE CARNEIRO

COMISSÃO EXAMINADORA:

Presidente: Prof. Dr. Foued Salmen Espíndola - UFU

Examinadores: Prof. Dr. Ernesto Akio Taketomi - UFU

Profa. Dra. Mara Reis Silva - UFG

Data da Defesa: 18 / 04 / 2005

As sugestões da Comissão Examinadora e as Normas PGGB para o formato da Dissertação/Tese foram contempladas



(Orientador)

Prof. Dr. Foued S. Espindola

Uberlândia,

_____/_____/_____

Agradeço,

A Deus por estar guiando-me e trilhando meu caminho cada dia de minha vida,
A minha mãe, ao meu pai e minha avó Ávea pelo amor, carinho e incentivo,
Aos meus irmãos por estarem sempre ao meu lado,
A Mariana, minha irmã de fé,
Ao meu orientador pelo apoio e direcionamento,
A minha amiga de todas as horas Daniela Chaul,
Ao meu namorado pela compreensão, apoio e carinho,
As minhas amigas Martha e Júlia pela amizade sincera,
A minha secretária Marlene,
A Fernanda Freitas pelo comprometimento e dedicação,
A toda equipe técnica e jogadores da Associação Desportiva UNITRI, em especial ao Niltinho pelo empenho e disposição,
A todos os meus amigos que carinhosamente me apoiaram,
Aos meus colegas de laboratório, em especial ao Romeu e ao Aníbal pois foram fundamentais para realização deste trabalho, também a Karine, Karen, Carolina, Vivian e Vanessa pelo apoio na coleta das amostras;
Ao Dr. Elmiro pela atenção e incentivo,
Ao Guilherme Agostine e ao João Elias pela disponibilidade do Laboratório de Fisiologia,
A Sra Lílian Carneiro e ao Dr Paulo, por terem disposto seus laboratório s para a análise de material e pela atenção,
Em especial ao Labormed por permitir a conclusão desta pesquisa,
Também a Dra Lúcia, a Dênia, ao Fábio, ao Rodrigo e ao Leandro pela paciência e disposição.
E a todos que mesmo aqui não citados, contribuíram com esta pesquisa.

Meu sincero e eterno agradecimento.

Lista de Abreviaturas

ATP	adenosina tri-fosfato
Ca ⁺⁺	íon cálcio
Cl ⁻	íon cloro
CO ₂	gás carbônico
FC	freqüência cardíaca
HCO ₃ ⁻	íon bicarbonato
K ⁺	íon potássio
Na ⁺	íon sódio
T _{ca}	limiar de catecolaminas
Th _{la}	limiar de lactato
T _{sa}	limiar salivar
VO ₂	volume de oxigênio
W	watts

Lista de Figuras

Figura 1A	Concentrações de lactato sanguíneo; Voluntário EPF	p. 29 e 53
Figura 1B	Concentrações de proteína salivar; Voluntário EPF	p.29
Figura 1C	Concentrações de amilase salivar; Voluntário EPF	p.29
Figura 2B	Concentrações de proteína salivar; Voluntário LOG (1ªfase)	p.30
Figura 2C	Concentrações de amilase salivar; Voluntário LOG (1ªfase)	p.30
Figura 3B	Concentrações de amilase salivar; Voluntário LOG (2ªfase)	p.31
Figura 4A	Concentrações de lactato sanguíneo; Voluntário RDM	p.32 e 53
Figura 4B	Concentrações de proteína salivar; Voluntário RDM	p.32
Figura 4C	Concentrações de amilase salivar; Voluntário RDM	p.32
Figura 5	Relação entre a concentração de lactato sanguíneo e proteína salivar	p.33 e 53
Figura 6 (tabela 1)	Valores de frequência cardíaca, carga, atividade da amilase, proteína total e lactato	p.34 e 54

SUMÁRIO

RESUMO GERAL	08
1 INTRODUÇÃO	09
2 CAPÍTULO 1	17
3 CAPÍTULO 2	42
4 CAPÍTULO 3	64
5 CONCLUSÃO GERAL	77
6 ANEXOS	78
6.1 ANEXO I – PROTOCOLO DE COLETA DE FLUXO SALIVAR	78
6.2 ANEXO II – PROTOCOLO DE ANÁLISE DE LACTATO	80
6.3 ANEXO III – COLETA E ANÁLISE SANGUÍNEA	81
6.4 ANEXO IV – LIBERAÇÃO DO LABORATÓRIO DE FISIOLOGIA	82
6.5 ANEXO V – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO	83
6.6 ANEXO VI – FOTO DO LACTÍMETRO E DA PIPETA	84

RESUMO GERAL

Os biomarcadores salivares estão sendo investigados nos últimos 20 anos. A saliva oferece diversas vantagens, em relação a outros fluidos, no monitoramento de biomarcadores do estado fisiológico do organismo. Sabe-se que durante o exercício ocorre um aumento nas concentrações de amilase e proteínas salivares, bem como de lactato e que existe uma alta correlação entre o comportamento dessas curvas. Os objetivos desta pesquisa foram: 1- avaliar a relação entre exercício, produção de lactato e alteração da composição salivar em termos de proteínas totais e amilase salivar durante exercício em cicloergômetro num teste com incremento de carga; 2- comparar a produção de lactato e a performance de jogadores de futebol durante um teste de esforço após a suplementação de - carboidrato puro, carboidrato com creatina e carboidrato com aminoácidos; e 3- identificar o perfil alimentar, antropométrico e de reidratação dos jogadores de futebol, visando estabelecer as possíveis metas de intervenção nutricional.

Método: Homens saudáveis, não fumantes, jogadores profissionais de futebol, realizaram um teste num cicloergômetro com incremento de carga. A pesquisa baseou-se em duas etapas, com intervalo de 30 dias, sendo a primeira um teste de esforço para se determinar a frequência cardíaca, o volume de VO_2 máximo e a carga máxima e a segunda dividiu-se em um protocolo para depleção do glicogênio muscular, seguido de suplementação e novamente um teste de esforço. Durante os testes, a cada dois minutos, foram coletados sangue e saliva e avaliava-se a frequência cardíaca.

Resultados: em resposta ao 1º objetivo verificou-se que durante o exercício ocorreu um aumento nas concentrações de amilase e proteínas salivares, bem como de lactato. Logo, há uma similaridade no

ponto do limiar anaeróbico analisado pelas proteínas salivares com o do limiar do lactato sanguíneo. Concluiu-se que houve uma alta correlação ($r=0.95$, $p<0.05$) entre o limiar de proteína total salivar e o limiar de lactato durante exercício físico com incremento de carga, evidenciando a saliva como uma alternativa consistente para avaliação do limiar anaeróbico e conseqüentemente da performance atlética. Em resposta ao 2º objetivo verificou-se que as médias dos valores de lactato da primeira e da segunda fase são estatisticamente diferentes ($p<0,05$). No 5º minuto do pós-teste, as médias de lactato, entre uma fase e outra variaram conforme a suplementação. O grupo suplementado com carboidrato e creatina obteve as médias de lactato menores na segunda etapa. Este grupo teve melhora da performance e menor produção de lactato. Em relação ao 3º objetivo concluiu-se que os jogadores apresentaram uma dieta habitual inadequada em macronutrientes, perfil antropométrico satisfatório e ingestão hídrica aquém das recomendações, sendo necessária a intervenção nutricional visando modificações comportamentais.

PALAVRAS CHAVES: biomarcadores salivares, lactato, exercício extenuante, suplementação, futebol, nutrição, hidratação, antropometria.

INTRODUÇÃO

Os biomarcadores salivares estão sendo investigados nos últimos 20 anos. A saliva oferece diversas vantagens, em relação a outros fluidos, no monitoramento de biomarcadores do estado fisiológico do organismo. Alguns destes biomarcadores salivares, filtrados do sangue (lactato, cortisol e óxido nítrico) ou próprios das glândulas salivares (amilase salivar, sódio, potássio), podem ser utilizados para avaliar a capacidade física dos indivíduos (Bortolini 2003, Guilbaut e Palleschi, 1995).

Em relação ao método mais convencional de mensurar o lactato sangüíneo, a avaliação dos biomarcadores salivares é menos invasiva, de fácil coleta, apresenta maior biossegurança e menor custo. O limiar salivar foi determinado por análise da mudança da composição salivar durante exercício em cicloergômetro com incremento de cargas e definido como "o ponto no qual houve o primeiro aumento contínuo de Cl^- , Na^+ ou K^+ " (Chicharro et al., 1994). Posteriormente, o mesmo limiar salivar foi definido como sendo, "o ponto no qual o primeiro aumento contínuo da amilase salivar ocorre durante o exercício" (Calvo et al., 1997). Chicharro et al. (1998) o redefiniram como sendo "o ponto durante o exercício o qual os níveis de alfa-amilase salivar e eletrólitos (especialmente Na^+) também começam a aumentar acima dos níveis basais".

O estudo de Bortolini (2003), realizado na Universidade Federal de Uberlândia avaliou e reafirmou a alternativa de análise da capacidade anaeróbica através dos biomarcadores salivares, o que foi importante para esclarecer, treinar e avaliar técnicas e padrões de coleta, bem como confirmar os resultados encontrados em outros trabalhos já publicados.

Em condições fisiológicas, o volume de saliva secretado por dia é de aproximadamente 750 mL, o que representa aproximadamente 20% do volume total do plasma (Calvo et al., 1997; Chicharro et al., 1994). A secreção salivar e a composição da mesma dependem da atividade do sistema nervoso autônomo. Existe uma variedade de componentes na saliva, mas a água equivale a mais de 99% do total do volume. O sódio e o potássio e às vezes o cálcio são os principais cátions que regulam a osmolaridade desse fluido e os principais ânions

osmoticamente ativos são o cloro e o íon bicarbonato. Embora a porcentagem total de proteínas seja menor quando comparada a do sangue, proteínas específicas, como a alfa-amilase, são sintetizadas nas glândulas salivares e podem estar presentes na saliva em níveis maiores que no plasma (Chicharro et al., 1998).

O pH da saliva é de 6,64, mas variações podem ocorrer dependendo da quantidade de CO₂ no sangue. Quando ocorre um aumento da concentração de CO₂ no sangue, uma grande parte desse é transferido para a saliva diminuindo o pH da mesma (Chicharro et al., 1998). A taxa do fluxo salivar parece ser o principal fator determinante no valor do pH. O sistema tampão de maior importância na determinação do pH é o sistema bicarbonato (HCO₃⁻). A secreção de bicarbonato aumenta com a elevação do fluxo salivar, conduzindo a um aumento do pH (Jensen et al., 1998).

A saliva não estimulada sofre influência de muitos fatores, dentre eles o grau de hidratação (Holmens, 1964 apud Navazesh, 1993), exposição à luz, horário do dia, estímulo gustatório / mastigatório, posicionamento do corpo (Navazesh, 1993), estações do ano, medicamentos e tamanho das glândulas. Na presença de estímulos a natureza e a duração do estímulo alteram a produção salivar (Navazesh, 1993).

A intensidade, a duração e o tipo de exercício devem ser considerados uma vez que estes afetam a produção e a composição da saliva. Segundo Chicharro et al (1994;1998); Calvo et al. (1997), exercícios anaeróbicos intensos promovem uma diminuição do fluxo salivar. Isto é explicado pelo aumento na atuação do sistema nervoso simpático durante o exercício, o qual estimula a produção dos componentes salivares e não do volume secretado, o que determina um aumento nas concentrações dos constituintes da saliva, principalmente alfa-amilase e outras proteínas. Já o sistema parassimpático estimula o fluxo salivar, mas com baixos níveis de componentes orgânicos (proteínas, dentre elas a enzima alfa-amilase) e inorgânicos (Ca⁺⁺, K⁺, HCO₃⁻).

Desde 1964, Wasserman and McIlroy propuseram as alterações hemodinâmicas que ocorriam durante um exercício. Tratava-se de adaptações fisiológicas que ocorriam para proporcionar continuidade ao exercício, sendo: elevação da concentração de lactato sangüíneo; aumento do volume da

ventilação pulmonar e do CO₂ produzido. Isto mostrava que o processo energético estava alterado, e que essas mudanças eram necessárias para produção de mais energia para a continuidade do exercício anaeróbico (Chicharro et al., 1994).

É sabido que exercícios com incremento de carga, em cicloergômetro, determinam um aumento da produção de lactato e que este é um indicativo da acidose metabólica. Por ocorrerem adaptações fisiológicas durante esse tipo de teste, é possível determinar o limiar anaeróbico através de análise das alterações dos biomarcadores salivares (Chicharro et al., 1994; Bortolini, 2003). Isto é possível porque existe uma alta correlação entre o limiar anaeróbico salivar (Th_{sa}) e o limiar anaeróbico de lactato (Th_{la}) (Chicharro et al., 1994).

O paradigma do lactato mudou. Hoje o lactato é visto como uma consequência da diminuição ou ausência de oxigenação cerebral e tem sido proposto que ele retarde a fadiga, e não que ele a determine (Gladden, 2004; Shibuya et al. 2004).

Todas essas alterações adaptativas relacionam-se ao comportamento fisiológico e bioquímico do organismo diante de um exercício extenuante. E ainda, por saber do aumento da necessidade energética durante esse tipo de atividade física propõe-se também a análise de recursos ergogênicos que possam agir positivamente no aumento da disponibilidade energética e conseqüentemente na manutenção da performance.

Vários estudos retratam a importância dos complementos para aumentar a disponibilidade energética e o aporte protéico (Phillips, 2004; Hargreaves, 2004).

Um substrato destacado é a creatina fosfato, uma amina fosforilada, que contém em sua estrutura um fosfato inorgânico capaz de aumentar a produção de ATP colaborando para a performance do atleta (Ostojic, 2004).

Segundo Derave et al. (2003), a suplementação de carboidrato associado à creatina estimula, em maior grau, a expressão de GLUT 4 – proteína responsável pela restauração do glicogênio muscular no pós-treino – quando comparada com placebo e creatina separadamente. Saris & van Loon (2004) comprovaram benefícios do uso isolado de creatina.

De acordo com uma comparação feita no estudo de Nicholas et al. (1999), em jogadores de futebol, foi demonstrado que o grupo suplementado com carboidrato utilizou bem menos o glicogênio muscular estocado do que o não

suplementado, favorecendo a recuperação muscular. A taxa de utilização do mesmo para a geração de energia, com a suplementação, diminuiu em 22%. Outros autores como Zehnder et al. (2001), Schokman et al., (1999), Shephard, & Leatt (1987) e Balsom et al. (1999) também enfatizam a necessidade de se ingerir carboidratos para a manutenção da glicose plasmática, para a performance e para a restauração dos níveis de glicogênio muscular no pós-treino.

A fadiga durante o jogo está associada à depleção das reservas de glicogênio muscular, limitando a capacidade do jogador em manter a alta intensidade das corridas no final do jogo. Em caso de inadequação de energia não protéica, particularmente dos carboidratos, parte dos aminoácidos será utilizada na preservação da glicemia, acompanhando perda de alguma função orgânica (van Loon et al., 2000).

A nutrição tem tido um crescente interesse por parte de atletas e praticantes de atividade física. Uma alimentação adequada visa: manter a composição corporal; fornecer substratos para as vias metabólicas associadas à atividade física (Hargreaves, 2004); armazenar energia na forma de glicogênio (Rico Sanz, 1998); retardar a fadiga muscular (Shephard & Leatt, 1987); promover hipertrofia muscular, quando necessário (Lemon, 1994); e auxiliar na recuperação de lesões e traumas eventualmente provocados pelos exercícios.

A hidratação atua na manutenção da velocidade do processo psicomotor, na atenção (Sulir et al., 2004), no fornecimento energético (Hawley et al., 1994), e na reparação dos eletrólitos (Maughan & Leiper, 2004; Cazzola et al., 2003).

As necessidades de energia, nutrientes e fluidos de um atleta são diretamente proporcionais ao tipo, à frequência, à intensidade e à duração do treinamento. Além desses, fatores como o peso, a altura, o sexo, a idade e o metabolismo também irão influenciar (Rico Sanz, 1998; Lima e Percego, 2001).

Os jogadores de futebol participam, ao longo do ano, de várias competições. O calendário é restrito a treinos e jogos desgastantes, devendo assim, não apenas, estarem aptos a suportar a demanda de energia durante os treinos, mas também ter uma rápida recuperação para participarem das próximas partidas (Zehnder et al. 2001; Lima e Percego, 2001).

Assim, a avaliação da alimentação e da hidratação é fundamental para identificação das possíveis metas de intervenção nutricional que possam

contribuir para otimização da performance. (Revees & Collins, 2003; Shephard & Leatt, 1987)

Esta dissertação foi desenvolvida a partir da avaliação de jogadores profissionais de futebol. É composta por três capítulos e objetivou respectivamente, avaliar: a produção de proteína total, atividade da amilase e lactato após a suplementação; a interferência destes complementos na performance e também os hábitos alimentares, o perfil antropométrico e a reidratação destes atletas.

A escolha do público alvo deve-se ao fato do futebol ser o esporte mais popular no nosso país e também por saber das limitações financeiras e culturais dos praticantes desta modalidade. Esse trabalho representou um meio para conscientização da necessidade de hábitos comportamentais saudáveis, acrescido de investigações fundamentais para manutenção e/ou melhora do desempenho físico dos atletas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BALSOM, P.D.; WOOD K.; OLSSON, P.; EKBLÖM, B. Carbohydrate intake and multiple sprint sports: with special reference to football (soccer). *Int J Sports Med.* v.20, n.1, p.48-52, Jan, 1999.
2. BORTOLINI JR, M. A. *Biomarcadores salivares do exercício físico para determinação do limiar anaeróbico humano*. Uberlândia, 2003. 130p. Dissertação (Mestrado em Genética e Bioquímica) – Departamento de Genética e Bioquímica, Universidade Federal de Uberlândia.
3. CALVO, F.; CHICHARRO, J. L.; BRANDÉS, F.; LUCÍA, A.; PERES, M.; ÁLVARES, J.; MOJARES, L. L.; VAQUERO, A. F.; LEGIDO, J. C. Anaerobic threshold determination with analysis of salivary amylase. *Can. J. Appl. Physiol.* v.22 n.6, p. 553-561, 1997.

4. CAZZOLA, R.; RUSSO-VOLPE, S.; CERVATO, G.; CESTARO, B. Biochemical assessments of oxidative stress, erythrocyte membrane fluidity and antioxidant status in professional soccer players and sedentary controls. **Eur J Clin Invest.** v.33, n.10, p. 924-30, 2003.
5. CHICHARRO J. L.; LEGIDO, J. C.; ALVARES, J; SERRATOSA, L.; BRANDES, F.; GAMELLA, C. Saliva electrolytes as a useful tool for anaerobic threshold determination. **European journal of Applied Physiology.** v.68, 1994.
6. CHICHARRO, J. L.; LUCIA, A.; PEREZ, M.; VAQUERO, A. F.; URENA, R., Saliva composition and exercise. **Sports Medicine.** v.26, Jul, 1998.
7. DERAIVE, W.; EIJINDE, B. O.; VERBESSEM, P.; RAMAEKERS, M.; VAN LEEMPUTTE, M.; RICHTER, E. A.; HESPEL, P. Combined creatine and protein supplementation in conjunction with resistance training promotes muscle GLUT 4 content and glucose tolerance in humans. **J Appl Physiol.** v. 94, p.1910-1916, 2003
8. GLADDEN, L. B. Lactate metabolism: a new paradigm for the third millennium. **J Physiol.** v.1, n.558, p.5-30, 2004.
9. GUILBAUT, G. G.; PALLESHI, G. Non-invasive biosensors in clinical analysis. **Biosensors & Bioelectronic.** n. 10, p. 379-392, 1995.
10. HAWLEY, J.A.; DENNIS, S.C.; NOAKES, T.D. Carbohydrate, fluid and electrolyte requirements of the soccer players: a review. **Int J Sport Nutr.** v.4, n.3, p.221-36, Sep, 1994.
11. HARGREAVES M. Muscle glycogen and metabolic regulation. **Proc Nutr Soc** v.63, n.2, p.217-20, 2004

12. JENSEN, J. L., KARATSAIDIS, A., BRODIN, P. Salivary secretion: stimulatory effects of chewing-gum versus paraffin tablets. **Eur J. Oral Sci.** v.106,p. 892-896, 1998.
13. LEMON, P.W. Protein requirements of soccer. **J Sport Sci.** v.12, p.17-22, 1994.
14. LIMA, G. G. R.; PERCEGO, D. A importância da nutrição no futebol. **Nutrição e Performance.**v. 13, p. 13 – 17, Out/Nov, 2001.
15. MAUGHAN, R. J.; LEIPER, J. B. Fluid replacement requirements in soccer. **J Sports Sci.** v.12,p.529-34, 2004.
16. NAVAZESH, M. Methods for collecting saliva. **Annals of the New York Academy of Science, Saliva as a diagnostic fluid.** New York, v. 694, p. 72-77. Sept, 1993. Número especial.
17. NICHOLAS et al. Carbohydrate-electrolyte ingestion during intermittent high-intensity running. **Med Sci Sports Exerc.** v.31, n.9, p.1280-6,1999.
18. OSTOJIC, S. M. Creatine supplementation in young soccer players. **Int J Sport Nutr Exerc Metab.**v. 14,n.1,p. 95-103,2004.
19. PHILLIPS, S. M. Protein requirements and supplementation in strength sports. **Nutrition.** v.20,n.7-8,p.689-95,2004.
20. REEVES S., COLLINS K. The nutritional and antropometric status of Gaelic football players. **Int J Sport Nutr Exerc Metab.** v.13, n.4, p. 539-48, Dec, 2003.
21. RICO-SANZ, J. Body composition and nutritional assessment in soccer. **Int J Sport Nutr.** v.8, n.2, p. 113-23, Jun, 1998.

22. SARIS, W. H.; VAN LOON, L. J. Nutrition and health--nutrition and performance in sports. **Ned Tijdschr Geneeskd.** v.148,n.15,p. 708-12,2004.
23. SCHOKMAN, C.P.; RUTISHAUSER, J.H.; WALLACE, R.J. Pre and postgame macronutrient intake of a group of elite Australian football players. **Int J Sport Nutr.** v.9,n.1,p.60-9,1999.
24. SHIBUYA K., TANAKA J., KUBOYAMA N., OGAKI T. Cerebral oxygenation during intermittent supramaximal exercise. **Respir Physiol Neurobiol.** v.20,n.140-2,p.165-72,2004.
25. SPHEPHARD, R. J., LEATT, P. Carbohydrate and fluid needs of soccer player. **Sports Med.** v.4, n.3, p.164-76, 1987.
26. SULIR, J. A.; HALL J.; PATTERSON, S.M.; NIINISTO R.T. The relation of hydration status to cognitive performance in healthy older adults. **Int J Psychophysiol.** v.53, n.2, p. 121-5, jul, 2004.
27. VAN LOON, L. J. C., SARIS, W. H. M., KRUIJSHOOP, M. & WAGENMAKERS, A. J. M. Maximizing postexercise muscle glycogen sintesis: carbohydrate supplementation and the application of amino acid or protein hydrolisate mixtures. **Am J Clin Nutr.** v.72, p. 106-11, 2000.
28. WASSERMAN, K.; McLLORY, M.B. Detecting the threshold of anaerobic metabolism in cardiac patients during exercise. **American Journal Cardiology.** v.14, p.844-852,1964.
29. ZEHNDER M.; RICO SANZ J.; KUHNE G.; BOUTELLIER U. Resynthesis of muscle glycogen after soccer specific performance examined by ¹³C – magnetic resonance spectroscopy in elite players. **Eur J Appl Physiol.** v.84, n.5, p443-7, May, 2001.

**Uso dos biomarcadores salivares, atividade de alfa-amilase e
concentração de proteína total, durante um teste de esforço com incremento
de carga num cicloergômetro, com jogadores de futebol**

Authors: Juliana H. Carneiro¹; Romeu P.M.S. Lamounier¹; Aníbal M. M. Neto¹; Daniela Name Chaul¹; Foued S. Espindola^{1*}.

Affiliation: ¹Instituto de Genética e Bioquímica - Laboratório de Bioquímica e Biologia Molecular, Universidade Federal de Uberlândia - Campus Umuarama - Bairro Umuarama - Uberlândia, Minas Gerais, Zipcode: 38400-902, Brazil;

Affiliation: foued@ufu.br; Phone: (55) 34-3218-2477(Brazil), Fax: (55)34-3218-2203 (Brazil).

Juliana Hubaide Carneiro: 430, Nicomedes Alves dos Santos Av, Uberlândia-MG-Brazil, ZIPCODE: 38400-170.

Romeu Paulo Martins Silva Lamounier: 35, José Antonio de Oliveira St, Ap-23 bloco-C; Bairro: Ozanan; Uberlândia-MG-Brazil, ZIPCODE:38400-000

Aníbal Monteiro de Magalhães Neto: 4465, Brasil Av, Ap 402 bloco B ; Bairro: Umuarama; Uberlândia-MG-Brazil, ZIPCODE: 38405-312

Daniela Name Chaul: 4465, Brasil Av, Ap 301 bloco C ; Bairro:

Umuarama; Uberlândia-MG-Brazil

ZIPCODE: 38405-312

Foued Salmen Espindola:

39, Padre Anchieta St, Centro - Uberlândia

MG-Brazil, ZIPCODE: 38400-061.

Resumo

Objetivo: avaliar a relação entre exercício, produção de lactato e alteração da composição salivar em termos de proteínas totais e amilase salivar durante exercício em cicloergômetro num teste com incremento de carga. **Método:** Vinte homens saudáveis, não fumantes, jogadores profissionais de futebol, realizaram um teste num cicloergômetro com incremento de carga. A pesquisa baseou-se em duas etapas, sendo a primeira um teste de esforço para se determinar a frequência cardíaca, o volume de VO_2 máximo e a carga máxima e a segunda dividiu-se em um protocolo para depleção do glicogênio muscular, seguido de suplementação e novamente um teste de esforço. Durante os testes, a cada dois minutos, foram coletados sangue e saliva e avaliava-se a frequência cardíaca. **Resultados:** durante o exercício ocorreu um aumento nas concentrações de amilase e proteínas salivares, bem como de lactato. Há uma similaridade no ponto do limiar anaeróbico analisado pelas proteínas salivares com o do limiar do lactato sanguíneo. **Conclusão:** houve uma alta correlação ($r=0.95$, $p<0.05$) entre o limiar de proteína total salivar e o limiar de lactato durante exercício físico com incremento de carga, evidenciando a saliva como uma alternativa consistente para avaliação do limiar anaeróbico e conseqüentemente da performance atlética.

PALAVRAS CHAVES: saliva, alfa-amilase, proteínas salivares, exercício extenuante

Introdução

O volume e a composição da saliva são alterados durante exercícios físicos por ação do sistema nervoso autônomo. O sistema simpático estimula a produção de alfa-amilase, proteína total e eletrólitos. Já o parassimpático, que estimularia o volume do fluxo, tem sua ação diminuída neste momento^{1,2}. Isto ocorre pelo fato desse sistema promover vasoconstricção nas vias que suprem as glândulas salivares, resultando num volume salivar pequeno. Vários mecanismos associados à alta intensidade do exercício, como um aumento na atividade β -adrenérgica, desidratação ou evaporação da saliva através da hiperventilação, embora menos prováveis, têm sido propostos para explicar a menor secreção de saliva em exercícios prolongados^{1,2,3,4,5,6,7}. Segundo Walsh et al.⁸, a hipoidratação é um fator determinante na diminuição do fluxo salivar, bem como no aumento da concentração da proteína na saliva, porém o volume de reidratação varia com o tipo de bebida oferecida, a intensidade do esforço e com a temperatura ambiente⁹.

Sabe-se hoje, que a saliva representa um ultra-filtrado do sangue, portanto uma fonte alternativa de análise para determinação de biomarcadores fisiológicos de vários tecidos corporais. Este método ainda apresenta a vantagem de ser menos invasivo na coleta de fluido¹⁰.

O uso dos biomarcadores salivares ganhou popularidade na década passada principalmente em pesquisa biomédica e psicológica¹¹. Pesquisas têm mostrado que a atividade da alfa-amilase pode ser usada como indicador de condições de estresse, pois nestas circunstâncias a atividade da alfa-amilase aumenta mais rápido que as concentrações de cortisol e após a retirada do fator

estressante sua atividade também diminui bem rápido¹². Portanto, pode ser considerada uma forma não-invasiva de se avaliar estresse^{11,12,13}. A medida da atividade da alfa amilase salivar como indicador de estresse pode substituir medidas convencionais de pressão arterial e frequência cardíaca, e mesmo medidas bioquímicas hormonais¹³.

Fatores de diferentes naturezas podem determinar estresse ao ser humano, assim, até mesmo um teste de esforço pode ser considerado um fator estressante, sendo esperado o aumento da atividade da alfa-amilase¹⁴. Ao se fazer um teste de esforço, o jogador sabe que seu desempenho determinará considerações em relação ao seu papel no time, sendo assim a pressão psicológica de se alcançar bons resultados, bem como a sobrecarga física durante o teste o estressa significativamente¹⁴. Há constatações que a capacidade aeróbica dos jogadores de futebol influencia substancialmente sua performance técnica e suas escolhas táticas¹⁵.

Os marcadores salivares podem ser usados para determinar o limiar anaeróbico. Teve-se como a primeira definição de limiar anaeróbico salivar (Thsa) a "intensidade na qual há o primeiro aumento contínuo de um destes, Cl^- , Na^+ ou K^+ , durante o exercício. E muitos estudos mostram uma correlação entre os marcadores plasmáticos, lactato e catecolaminas, durante testes máximos com incremento de carga em cicloergômetro^{7,8}. O limiar de catecolaminas (Thca) é definido como "o ponto no qual há um aumento não linear ou da nor-adrenalina ou da adrenalina".² Assim foi possível encontrar outros limiares anaeróbicos salivares, tais como o limiar a partir da análise da atividade de amilase salivar, na saliva total, durante teste de exercício em laboratório, definido como sendo "a intensidade na qual há o primeiro aumento contínuo da amilase salivar durante o

exercício”³. Nota-se que há uma relação entre o aumento da proteína e da amilase com o aumento do lactato e a definição de limiar anaeróbico de lactato é: “ o ponto de inflexão da lactatemia, caracterizado pela transição do aumento linear para exponencial”¹⁶ . Existe uma relação direta entre o pico de lactato sanguíneo e o aumento dos níveis de lactato salivar^{1,2}. Percebe-se assim, que a saliva é uma alternativa viável e menos invasiva para se determinar a transição do momento aeróbico para anaeróbico durante o exercício, sendo uma outra alternativa para se verificar potencial atlético e fadiga periférica³.

Walsh et al.⁸ verificaram que o efeito do esforço agudo em um exercício intenso intermitente determina um aumento na concentração da proteína total em três vezes ($p < 0,01$) em relação ao basal e que este valor retorna, a níveis de pré-exercício, 2,5 horas após o esforço. Sugere-se que na saliva existem mais de 200 tipos de proteínas¹⁷ e sabe-se que a quantidade de amilase em relação à proteína total é de aproximadamente 10-70%¹⁸.

O objetivo deste trabalho foi avaliar a relação entre exercício, produção de lactato e alteração da composição salivar em termos de proteínas totais e amilase salivar durante exercício em cicloergômetro num teste com incremento de carga.

Material e Métodos

Indivíduos

Foram selecionados, através de análise bioquímica (hemograma completo, lipidograma com frações, glicemia de jejum, função renal - creatinina e uréia; função hepática – transaminase glutâmica oxaloacética e transaminase glutâmica

pirúvica; albumina plasmática), vinte indivíduos, do sexo masculino, saudáveis (peso: $72,9 \pm 6,68$; altura: $1,79 \pm 0,05$; idade: $21,54 \pm 4,40$), não fumantes, jogadores profissionais de futebol, com mesma rotina de treinamento. Todos os atletas foram informados da natureza do teste e assinaram um termo de consentimento conforme determina o Conselho Nacional de Saúde do Brasil, resolução 2/01, antes do início dos testes (Anexo V).

Procedimento Experimental

Foi verificado antes do teste: (a) se estavam sem realizar exercício físico nas últimas 24 h, (b) se não haviam ingerido refrigerantes (tipo cola ou guaraná), chá preto e café no dia em questão e (c) se a higiene bucal havia sido feita corretamente.

Os testes foram realizados entre 08:00 h e 12:00 h, com a temperatura da sala mantida em 25°C. A pesquisa baseou-se em duas etapas: a primeira foi considerada como pré-teste e a segunda em que os atletas passaram por um protocolo de exercício, também em cicloergômetro, para a depleção do glicogênio muscular¹⁹ e 1 hora após repetiram o teste da primeira etapa.

1ª etapa: Pré-teste:

Na primeira etapa foi feito o teste para determinar o VO_2 máximo dos 20 atletas. O teste foi feito num cicloergômetro (Ergofit 167, German) com incremento de 25 Watts a cada 2 minutos até a exaustão. Esses resultados foram necessários para determinar a carga de exercícios usada no protocolo de esgotamento de glicogênio muscular¹³, que compôs a 2ª etapa da pesquisa. A frequência de rotação, no ciclo ergômetro, foi mantida entre 60 e 70 rpm.

Previamente os voluntários realizaram alongamento e um aquecimento de dois minutos (sem carga na bicicleta). A frequência cardíaca foi mensurada com um freqüencímetro com interface (Polar, S610).

Após um mês foi realizada a 2ª etapa da pesquisa:

1º teste da 2ª etapa: Foi seguido o protocolo de Kuipers et al. appud van Loon ¹⁹ para se determinar o esgotamento do glicogênio muscular.

E 1 hora após foi realizado:

2º teste da 2ª etapa: Similar ao teste da 1ª etapa para comparar os efeitos da diminuição dos níveis de glicogênio muscular e da suplementação nas variáveis analisadas.

Aos 10 minutos após o primeiro teste desta etapa, foram fornecidos os suplementos (bebidas). Sendo assim, houve um intervalo de 50 minutos entre a ingestão da bebida e o início do segundo teste desta etapa.

Bebidas

Aos 10 minutos após o término do primeiro teste da segunda etapa, cada participante recebeu a suplementação padronizada com volume total de 3,5 mL/kg¹⁹, dissolvida em água gelada. As bebidas foram preparadas no mesmo dia, antes de se iniciar o teste e mantidas em refrigeração.

Quadro 1. Descrição da suplementação oferecida aos atletas.

Grupos divididos de acordo com a	Concentração
-----------------------------------------	---------------------

suplementação oferecida	
Controle	Água e 8 gotas de baunilha
Carboidratos	0,8 + 0,4g/kg/dia, sendo 0,6 g/kg de glicose e 0,6g/kg de maltodextrina
Carboidratos + Aminoácidos	0,8g/kg/dia + 0,4g/kg/dia respectivamente, sendo 0,4 g/kg de glicose e 0,4g/kg de maltodextrina. Aminoácido utilizado: Amino 2222 marca: Optimun Nutrition;
Carboidratos + Creatina	0,8g/kg/dia + 5g respectivamente - sendo 0,4 g/kg de glicose e 0,4g/kg de maltodextrina. Creatina utilizada: Pura - marca: Optimun Nutrition;

Coleta e Análise da Saliva (Anexo I)

Durante os testes, a cada 2 minutos, era coletado sangue do lóbulo da orelha e saliva. A estimulação da secreção salivar foi feita com uma goma de mascar. Este estímulo aumenta o fluxo salivar de 0,7 mL/minuto para 1,6 a 2,0 ml/minuto²⁰. Antes, durante e até cinco minutos após o término do teste, os atletas mascavam a goma (Trident, sabor menta) para que ocorresse esta estimulação²⁰. A saliva foi coletada pelo método de cuspe segundo Navazesh²¹. Dez minutos antes do teste físico, coletou-se saliva estimulada durante os primeiros cinco minutos (saliva basal), onde a saliva dos dois primeiros minutos

foi rejeitada e a dos três restantes era coletada numa proveta graduada, segundo Bortolini ²². Logo antes desta coleta os voluntários enxaguavam a boca com água deionizada para limpeza de “debris” celulares e outros. Avisava-se ao voluntário 30 segundos antes do término de cada estágio para que ele engolisse a saliva, mastigasse bem o chiclete e juntasse a saliva, a qual começava a ser coletada 10 segundos antes do término do estágio. A saliva era pré-resfriada por 1 hora e em seguida centrifugada a 14000 g (Beckman Avant J centrifuge), o sedimento foi rejeitado e o sobrenadante congelado a - 20°C até a análise. Em cada mini-tubo separava-se 80µL de saliva para se fazer a dosagem da proteína total e num outro tubo 20 µL para a análise da amilase salivar.

Coleta e Análise do Sangue (Anexos II e III)

Foi feita assepsia, do lóbulo da orelha, com álcool e em seguida furava-se o mesmo com uma lanceta. O sangue (25 µL) foi coletado com capilares heparinizados e colocados em mini-tubos com 50 µL de fluoreto de sódio e armazenados no gelo por no máximo 3 horas e em seguida congelado a - 20° C.

O lactato sangüíneo foi analisado por método eletro-enzimático (lactate analyzer YSI 1500 Sport from Yellow Springs) (Anexo VI).

Hidratação (Água)

Quadro 2. Volumes e horários de oferta de água.

Etapa	Volume	Horário
1 ^a	200mL	No alongamento (pré-teste)

	200mL	5 minutos após o término do teste
2 ^a (1 ^o teste)	200mL	No alongamento (pré-teste)
	200mL	Logo após o 1 ^o teste desta etapa
	200mL	30 minutos após o 1 ^o teste desta etapa
	200mL	50 minutos após o 1 ^o teste desta etapa
2 ^a (2 ^o teste)	à vontade	Após o teste

Análise Estatística

Foi aplicado o teste t-student para amostras dependentes para identificar diferenças ou não, aplicando-o para se comparar as médias, obtidas em todos os estágios do teste, de lactato, proteína e amilase comparando as duas etapas e também para se comparar os momentos de fluxo de saliva entre uma fase e outra e do 5^o minuto pós-teste.

Analisou-se também através do teste Scott-Knott (análise de variância) se houve diferença na performance dos atletas tratados com suplementos diferentes.

Para analisar a correlação entre o limiar de proteína total salivar e o limiar de lactato sanguíneo foi feito o cálculo do coeficiente de correlação de Pearson.

Resultados

Os comportamentos das curvas de lactato sanguíneo são mostrados nas figuras 1A e 4A, fica claro que com o aumento da intensidade ocorre um acúmulo de lactato. É notável que inicialmente a curva de lactato apresenta um comportamento linear e após o ponto do limiar anaeróbico a curva deixa de ter esta característica. As curvas de amilase salivar são evidenciadas nas figuras 1C, 2C, 3B e 4C e percebe-se que há um acúmulo nestas concentrações com o aumento da intensidade durante o teste. As concentrações de proteína total salivar estão destacadas nas tabelas 1B, 2B, 4B e também aumentam no decorrer do exercício. Nota-se uma similaridade entre o comportamento das curvas de lactato e proteína nas figuras 4A e 4B respectivamente, ressaltando a alternativa de se usar a proteína salivar como indicador do limiar anaeróbico. A figura 5 mostra a comparação entre as concentrações de proteína salivar e lactato sanguíneo no decorrer do teste.

Ao se aplicar o teste t-student para se comparar as médias, obtidas em todos os estágios do teste, de proteína e amilase das duas etapas nota-se que não há diferença estatisticamente significativa ($p > 0,05$). Já o lactato apresentou médias estatisticamente diferentes ($p < 0,05$). O valor de lactato pode ter sido menor na segunda etapa do teste devido a utilização de suplementos, pois estes aumentam o aporte energético.

Com relação ao momento de pré-teste (fluxo de saliva) das duas fases da pesquisa, a amilase apresentou médias significativamente diferentes ($p < 0,05$), enquanto que as concentrações da proteína total nos fluxos (pré-teste) das duas etapas mostraram-se estatisticamente iguais ($p > 0,05$).

Verificou-se também que no 5º minuto após os testes ocorria diminuição dos níveis de amilase e proteína. Enquanto que o lactato apresenta-se ainda alto, acumulado (tabela 1).

A tabela 1 mostra os valores de frequência cardíaca em cada estágio do teste e percebe-se que, em valor absoluto, as frequências cardíacas nos primeiros estágios (em média até o 3º estágio), são menores que a carga do teste. Posteriormente, esses valores são invertidos, uma vez que o exercício torna-se extenuante.

Figura 1A: Comportamento do lactato sanguíneo de acordo com o aumento da carga do exercício
Voluntário: EPF

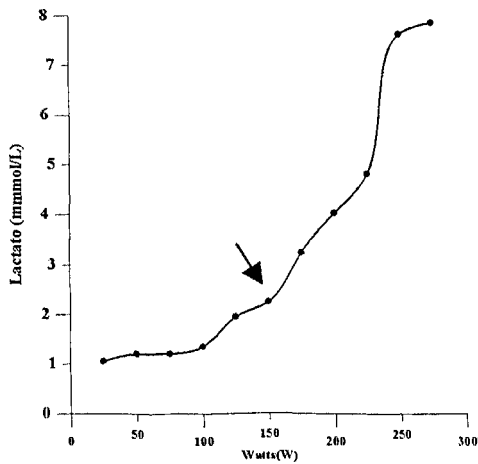


Figura 1B: Relação entre a concentração de proteína salivar e o aumento da carga durante o teste
Voluntário: EPF

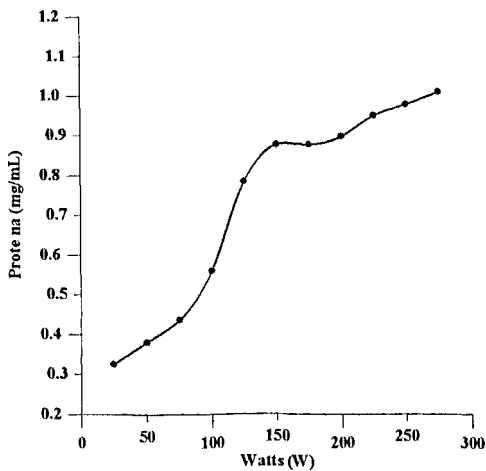


Figura 1C: Relação entre a concentração da amilase salivar com o aumento da intensidade do teste
Voluntário: EPF

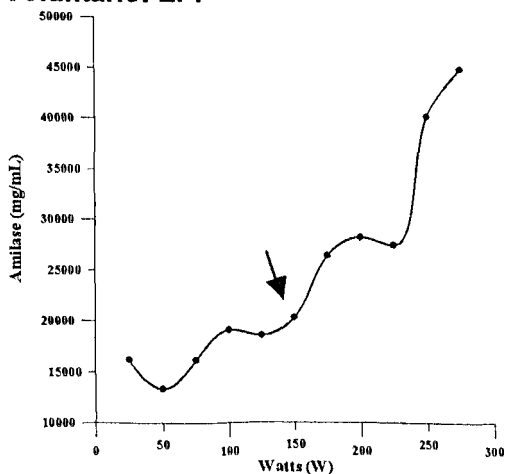


Figura 2B: Relação entre a concentração de proteína salivar e o aumento da carga durante o teste
Voluntário: LOG - 1ª etapa do teste

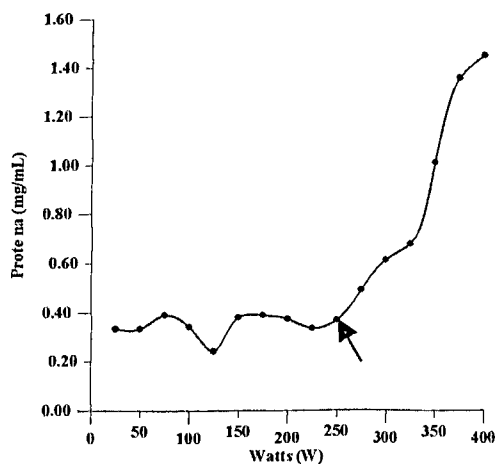


Figura 2C: Relação entre a concentração da amilase salivar com o aumento da intensidade do teste
Voluntário: LOG - 1ª fase do teste

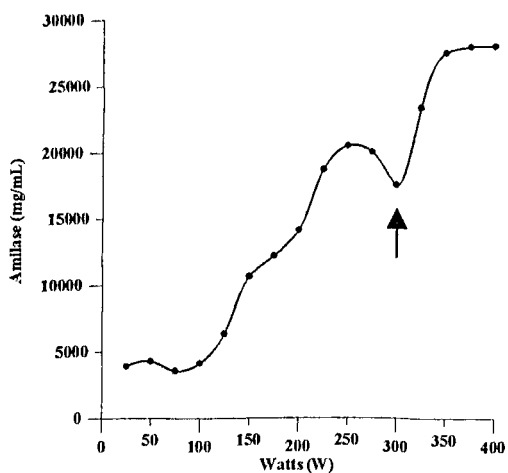


Figura 3B: Relação entre a concentração da amilase salivar com o aumento da intensidade do teste

Voluntário: LOG - 2ª fase do teste

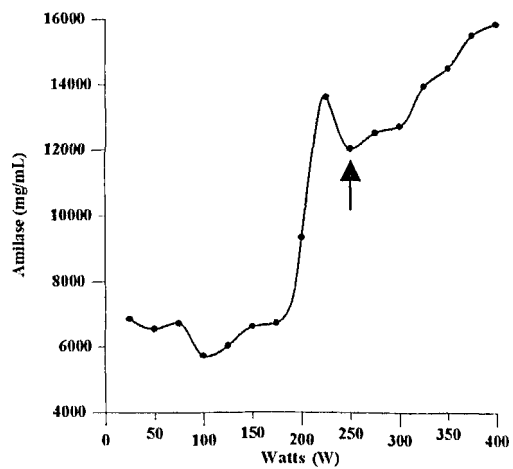


Figura 4A: Relação entre a intensidade do teste e a concentração de lactato sanguíneo.
Voluntário: RDM

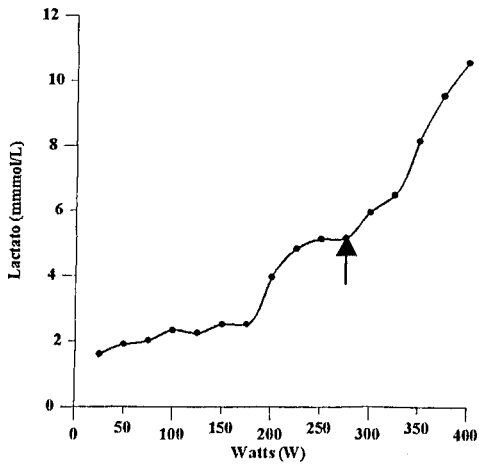


Figura 4B: Relação entre a concentração de proteína salivar e intensidade do exercício
Voluntário: RDM

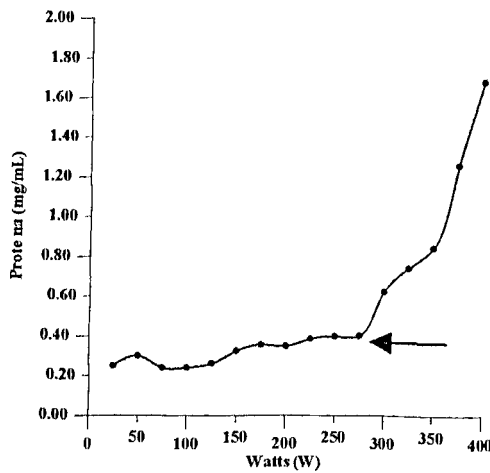
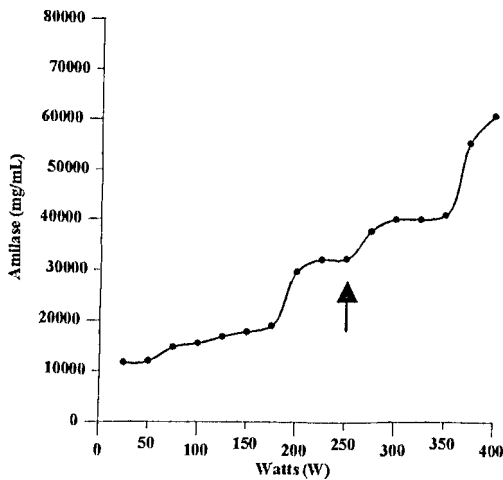


Figura 4C: Relação entre a concentração de amilase salivar e intensidade do exercício
Voluntário: RDM



Legenda:

→ - ponto de limiar anaeróbico

Figura 5: Relação entre o aumento das concentrações de proteína salivar e lactato sanguíneo.
Voluntário: RDM

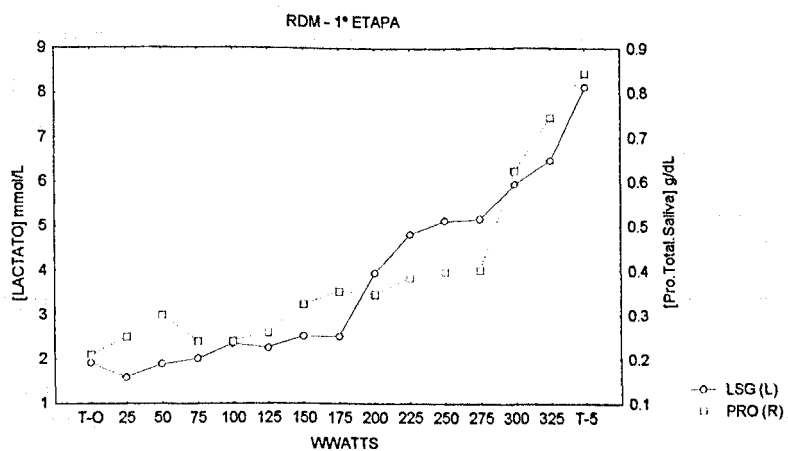


Tabela 1: Concentrações de proteína salivar, atividade da amilase, lactato durante o teste de esforço.

EPF		9 ml	25W	50W	75W	100W	125W	150W	175W
1 etapa	bpm		54	56	95	102	113	133	144
	LACT	1,02	1,05	1,2	1,2	1,35	1,95	2,25	3,24
	PRO	0,1625	0,325	0,38125	0,4375	0,5625	0,7875	0,8792	0,8802
	AMILASE	9940	16190	13320	16170	1908	20240	26280	28110
LOG		5ml	25W	50W	75W	100W	125W	150W	175W
1 etapa	bpm		51	64	77	77	89	93	108
	LACT	1,23	0,87	0,9	0,94	0,93	0,96	2,22	4,29
	PRO	0,287	0,333	0,333	0,39	0,342	0,243	0,381	0,39
	AMILASE	1290	3920	4290	3550	4130	6340	10650	12210
RDM		3 ml	25W	50W	75W	100 W	125 W	150 W	175W
2 etapa	bpm		59	78	81	108	113	127	140
	LAC	1,92	1,59	1,89	2,01	2,34	2,25	2,52	2,52
	PRO	0,21	0,25	0,3	0,24	0,24	0,26	0,324	0,354
	AMILASE	10514	11610	11850	14610	15410	16730	17700	18890
LOG		6 ml	25W	50W	75W	100 W	125 W	150 W	175W
2 etapa	bpm		64	81	86	89	98	106	119
	LAC	2,64	2,67	2,55	2,46	2,01	1,86	2,01	2,4
	PROT	0,658	0,85	0,625	0,3875	0,2625	0,5375	0,44375	0,26875
	AMILASE	5190	6860	6560	6720	5740	6040	6610	673

200W	225W	250W	275W	300W	325W	350W	375W	400W	5 minutos
154	164	172	177						
4,02	4,81	7,62	7,85						7,
0,901	0,954	0,982	1,013						0,481
28110	27330	39990	44770						241
200W	225W	250W	275W	300W	325W	350W	375W	400W	5 minutos
110	129	142	150	159	164	172	179	181	
2,85	2,82	4,02	3,42	3,57	7,47	10,89	11,13	11,22	11
0,375	0,336	0,369	0,492	0,615	0,681	1,014	1,359	1,451	1,0
14140	18720	20540	20090	17620	23420	27530	27950	27980	16
200 W	225 W	250 W	275W	300W	325W	350W	375W	400 W	5 minu
157	163	168	173	177	183	191	193	201	
3,96	4,83	5,13	5,16	5,94	6,48	8,13	9,52	10,54	12
0,348	0,385	0,398	0,401	0,624	0,745	0,845	1,257	1,678	0
29570	31920	32057	37542	39874	39957	40851	55400	60895	39
200 W	225 W	250 W	275W	300W	325W	350W	375W	400 W	5 minu
128	132	142	153	162	169	174	182	186	
2,43	2,13	3	3,39	3,87	5,4	6,6	7,11	7,84	
0,45	0,325	0,425	0,50625	0,36875	0,6375	0,675	0,7854	0,8731	0
9360	13630	12065	12550	12760	13987	14528	15530	15873	5

Discussão

Pôde-se perceber, através do coeficiente de correlação de Pearson, que existe uma alta correlação ($r=0.95$, $p<0.05$) entre o limiar de proteína total salivar e o limiar de lactato sanguíneo durante exercício físico com incremento de carga, como mostrado nas figuras 4A e 4B.

A determinação do limiar anaeróbico utilizando marcadores bioquímicos salivares como amilase e proteína total é bem mais vantajoso se comparado ao limiar anaeróbico sanguíneo: (a) maior aceitação por parte dos voluntários, pois é menos invasivo e menos dolorido; (b) é mais versátil, podendo ser usado em populações distintas²³; (c) é menos dispendioso; (d) é mais seguro, porque a saliva é um fluido com biossegurança classe 1²⁴.

Notou-se um aumento dos níveis de proteína durante o exercício, o que pode ser explicado pela ação do sistema nervoso autônomo durante o teste com incremento de carga, este sistema influencia no aumento dos níveis de proteína salivar, mas não o volume da saliva^{1,2}.

É importante ressaltar que a concentração de alfa amilase na saliva é um indicador dos níveis de catecolaminas plasmáticas, especialmente nor-epinefrina²⁵ e ela é a proteína mais abundante (10-70%) na saliva²⁶. Nota-se que há uma similaridade nos comportamentos das curvas de amilase e proteína total salivar, as duas tendem a aumentar com o incremento de carga. Durante o teste a atividade da alfa-amilase aumentou e logo após o mesmo, esta atividade mostrou-se menor, o que pode estar relacionado com a retirada do fator estressante¹². É importante perceber a funcionalidade da resposta da atividade da alfa-amilase em

condições estressantes, ressaltando a sua validade como medida não-invasiva de estresse.

Mesmo nos momentos do fluxo de saliva, comparando as duas etapas verificou-se que há diferença na concentração da amilase, o que pode estar relacionado ao fator de estresse ou de hipohidratação^{12,27}, pois tratava-se do momento de pré-treino. O fator psicológico de um teste pode ter desencadeado o aumento nas concentrações de alfa-amilase. Esta pressão é explicada pelo fato dos atletas estarem sendo avaliados quanto sua capacidade aeróbica, sendo determinante em sua performance¹⁵.

Bortolini²², apresentou curvas ascendentes para a proteína total salivária durante os testes de esforço, porém o incremento de carga era de 50 W a cada 5 minutos até 200 W, e a partir deste momento aumentava-se 25 W a cada 5 minutos. Nesta pesquisa, o aumento foi de 25 W desde o início do teste até o momento de exaustão, possibilitando assim que os testes fossem mais longos uma vez que eram menos intensos. Comparando-se os dois estudos percebe-se que neste último a concentração de proteína aumenta mais lentamente, pois trata-se de um teste menos estressante, acompanhando o aumento dos níveis de lactato que também aumentam mais sutilmente entre cada estágio do teste. Entretanto estes fatores sofrem influências de capacidade aeróbica individual, pois sabe-se que a capacidade aeróbica dos jogadores de futebol influencia substancialmente sua performance técnica e suas escolhas táticas¹⁵.

Ao se aplicar o teste t-student para comparar as médias de lactato, entre as duas fases, percebe-se que houve diferença nas médias ($p < 0,05$), o que indica que a utilização de suplementos aumentou o aporte energético retardando

fadiga periférica, porém não foi detectado qual o complemento determinou este benefício. Sugere-se que o caminho mais viável para este aporte energético seria o fosfagênico derivado de creatina fosfato, sua metabolização é anaeróbica e rápida e não promove elevação da concentração de lactato como a via glicolítica²⁸. Segundo Derave et al.,²⁹ a suplementação com carboidrato e creatina estimula, em maior grau, a expressão de GLUT 4 ao se comparar com placebo e com creatina separadamente. Esta proteína (GLUT 4) é responsável por captar glicose e internalizá-la para restaurar o glicogênio muscular^{28,30}.

Conclui-se assim que as concentrações de lactato, proteína total e atividade da amilase salivar aumentam durante exercícios com incremento de carga, enfatizando a alternativa de se avaliar o limiar anaeróbico a partir da proteína, pois existe alta correlação com o limiar de lactato sanguíneo. Reafirmamos, ainda, o fato da atividade da alfa-amilase ser usada como um excelente índice de estresse seja ele de ordem física, psicológica ou patológica, salientando a vantagem de ser fonte alternativa de análise não-invasiva.

Referências bibliográficas

1. Chicharro J L, Lucia A., Perez, M, Vaquero, A F, Urena, R. Saliva composition and exercise. *Sports Medicine* 1998; 26
2. Chicharro J L, Legido, J C, Alvares, J, Serratosa, L, Brandes, F, Gamella, C. Saliva electrolytes as a useful tool for anaerobic threshold determination. *European journal of Applied Physiology* 1994; 68.
3. Calvo, F, Chicharro, J L. Brandes, F, Lucia, A., Peres, M, Álvares, J, Mojares, L. L, Vaquero, A F, Legido, J C. Anaerobic threshold determination with analysis of salivary amylase. *Can. J. Appl. Physiol*; 1997; 22 (6): 553-561.
4. Denniss AR, Young JA. Modification of salivary duct electrolyte transport in rat and rabbit by physalaemin: VIP, GIP, and other enterohormones. *Pflügers Arch* 1978;376:73-80.
5. Emmelin, N. Nerve interections in salivary glands. *Jornal of Dental Research* 1987;66:509-17.
6. Rantonen PJ, Meurman JH. Correlations between total protein, lysozyme, immunoglobulins, amylase, and albumin in stimulated whole saliva during daytime. *Acta Odontol Scand* 2000;58:160-65.
7. Segura R, Javierre C, Ventura JLL, Lizarraga MA, Campos B, Garrido E. A new approach to assessment of anaerobic metabolism: measurement of lactate in saliva. *Br J Sports Med* 1996; 30 (4): 305-9.
8. Walsh NP, Blannin AK, Clark AM, Cook L, Robson PJ, Gleeson M. The effects of high-intensity intermittent exercise on saliva IgA, total protein and alpha-amylase. *J Sports Sci* 1999;17:129-34.
9. Maughan R J, Leiper J B. Fluid replacement requirments in soccer. *J Sports Sci* 2004; summer 12 Spec No: 529-34.
10. Lawrence HP. Salivary markers of systemic disease: noninvasive diagnosis of disease and monitoring of general health. *J Can Dent Assoc* 2002, 68:170-4.
11. Nater, U M. Looking for news stress measures-alpha-amylase in saliva. *Journal of Psychosomatic Research* 2004; 56 (6): 656
12. Yamaguchi et al. Effect of psychological stress on the salivary cortisol and amylase levels in health young adults. *Arch Oral Biol* 2004; 49 (12): 963-8.
13. Yamaguchi M, Kanemori T, Kaemaru M, Takai N, Yasufumi M, Yoshida, H. Performance evaluation of salivary amylase activity monitor. *Biosensors and Bioelectronics* 2004; 20:491-497.
14. Skosnik PD, Chatterton R T Jr, Swisher T, Park S. Modulation of attentional inhibition by noroepinephrine and cortisol after psychological stress. *Int J Psychophysiol* 2000; 36 (1): 59-68.
15. Chamari K, Hachana Y, Kaouech, F, Jeddi R, Moussa-Chamari J, Wisloff, U. Endurance training and testing with the ball in young elite soccer players. *Br J Sports Med* 2005; 39 (1): 24-8.
16. Wasserman et al. Comparasion of the effects of parasympathetic nervous stimulation on cat submaxillary gland saliva. *Proc Soc Exp Biol Med* 1969; 130 1:314-8.
17. Jenzano, J W et al. Comparison of five tecquines for determination of protein content in mixed human saliva. *Analytical Biochemistry*. North Carolina, v. 159, p. 370-376, Jul, 1986.
18. Minaguchi, K, Bennick, A. Invited Review. Genetics of human salivary protein. *J Dent Res*

19. Van Loon, L J C, Saris, W H M, Kruijshoop, M. & Wagenmakers, A J M. Maximizing postexercise muscle glycogen síntesis: carbohydrate supplementation and the application of amino acid or protein hydrolysat mixtures. *Am J Clin Nutr* 2000; 72: 106-11.
20. Jensen et. al. Salivary secretion: stimulatory effects of chewing-gum versus paraffin tablets. *Eur J. Oral Sci* 1998; 106: 892-896.
21. Navazesh, M. Methods for collecting saliva. *Annals of the New York Academy of Science, Saliva as a diagnostic fluid* 1993; (694): 72-77.
22. Bortolini J R, M. A. *Biomarcadores salivares do exercício físico para determinação do limiar anaeróbico humano*. Uberlândia, 2003. 130p. Dissertação (Mestrado em Genética e Bioquímica) - Departamento de Genética e Bioquímica, Universidade Federal de Uberlândia.
23. Parry JV. Simple, reliable salivary tests for HIV and hepatitis A and B virus diagnosis and surveillance. *Ann N Y Acad Sci, Saliva as a diagnostic fluid*. 1993;694:216-33.
24. Shirteliff EA, Granger DA, Schwartz E, Curran MJ. Use of salivary biomarkers in biobehavioral research: cotton-based sample collection methods can interfere with salivary immunoassay results. *Psychoneuroendocrinology* 2001;26:165-73.
25. Chatterton RTJr; Vogelsong KM; Lu YC; Ellman AB; Hudgens GA. Salivary alpha-amylase as a measure of endogenous adrenergic activity. *Clin Physiol* 1996;16(4):433-48.
26. Mandel ID, Ellison SA. Organic components of human paroted and submaxillary saliva. *Ann N Y Acad Sci* 1965;131:802-11.

27. Walsh N P, Montague J C, Callow N, Rowlands A V. Saliva flow rate, total protein concentration and osmolality as potential markers of whole body hydration status during progressive acute dehydration in humans. School of Sport, Health and Exercise Sciences, University of Wales 2003; Bangor LL57 2PX, UK .
28. Ivy JL, Kuo CH. (1998) Regulation of GLUT4 protein and glycogen synthase during muscle glycogen synthesis after exercise. *Acta Physiol Scand.* 16 2(3):295-304.
29. Derave W, Eijnde, B O, Verbessem P, Ramaekers M, Van Leemputte M, Richter E A, Hespel, P. Combined creatine and protein supplementation in conjunction with resistance training promotes muscle GLUT 4 content and glucose tolerance in humans. *J Appl Physiol* 2003; 94: 1910-1916.
30. Price et al. (1994) Human muscle glycogen resynthesis after exercise: insulin-dependent and independent phases. *Appl Physiol.* 76 (1): 104-11.

**Título: Avaliação da influência dos suplementos -
carboidrato puro, carboidrato com creatina e carboidrato com
aminoácidos - no desempenho e na formação de lactato em
atletas profissionais de futebol durante um teste de esforço em
cicloergômetro**

Authors: **Juliana Hubaide Carneiro¹; Romeu Paulo Martins Silva
Lamounier¹; Aníbal Monteiro de Magalhães Neto¹; Miguel Armando Bortolini
Júnior¹, Foued Salmem Espindola^{1*}.**

Affiliation: ¹Instituto de Genética e Bioquímica - Laboratório de Bioquímica e
Biologia Molecular, Universidade Federal de Uberlândia - Campus Umuarama -
Bairro Umuarama - Uberlândia, Minas Gerais, zip code: 38400-902, Brazil;
²Faculdade de Educação Física - Laboratório de Fisiologia; Universidade Federal
de Uberlândia.

Affiliation: foued@ufu.br; Phone: (55) 34-3218-2477(Brazil), Fax: (55)34-
3218-2203 (Brazil).

Juliana Hubaide Carneiro: 430, Nicomedes Alves dos Santos Av,
Uberlândia-MG-Brazil, ZIPCODE: 38400-170
**Romeu Paulo Martins Silva
Lamounier:** 35, José Antonio de Oliveira St, Ap-23 bloco
C; Bairro: Ozanan; Uberlândia-MG-Brazil,
ZIP CODE:38400-000
**Aníbal Monteiro de Magalhães
Neto:** 4465, Brasil Av, Ap 402 bloco B ; Bairro:
Umuarama; Uberlândia-MG-Brazil,
ZIPCODE: 38405-312
Miguel Armando Bortolini 2465, Rio Grande do Norte St, Umuarama -

Júnior

Foued Salmem Espindola:

Uberlândia-MG-Brazil, ZIP CODE: 38402-
016
39, Padre Anchieta St, Centro - Uberlândia-
MG-Brazil, ZIP CODE: 38400-061

Resumo

Objetivo: comparar a produção de lactato e a performance de jogadores de
futebol durante um teste de esforço após a suplementação de - carboidrato puro,
carboidrato com creatina e carboidrato com aminoácidos. Materiais e métodos:
vinte homens saudáveis (peso: $72,9 \pm 6,68$; altura: $1,79 \pm 0,05$; idade: $21,54 \pm$
 $4,4$), não fumantes. A pesquisa baseou-se em duas etapas, com intervalo de 30
dias, feitas em cicloergômetro (Ergofit 167, German): a primeira - teste com
incremento de carga com objetivo de determinar a carga e o VO_2 máximo dos
atletas. A cada 2 minutos, aumentava-se 25 W e coletava-se sangue do lóbulo da
orelha e saliva. Na segunda etapa, passaram por um protocolo de exercício para
a depleção do glicogênio muscular e 1 hora após repetiram o teste da primeira.
Neste intervalo de 1h foram fornecidas as suplementações. Manteve-se a rotação
do cicloergômetro entre 60 e 70 rpm. Resultados: as médias dos valores de
lactato da primeira e da segunda fase são estatisticamente diferentes ($p < 0,05$).
No 5º minuto do pós-teste, as médias de lactato, entre uma fase e outra variaram
conforme a suplementação. O grupo suplementado com carboidrato e creatina
obteve as médias de lactato menores na segunda etapa. Este grupo teve melhora
da performance e menor produção de lactato. Conclusão: a suplementação
conjunta de 0,8 g/Kg de carboidrato e 5 g de creatina logo após o atleta ter

seguido um protocolo de depleção do glicogênio muscular foi benéfica para aumentar a performance no teste de esforço feito em seguida.

Palavras chaves: biomarcadores, exercício, suplementação, lactato, futebol

Introdução

Os suplementos alimentares são uma alternativa para suprir a alta demanda energética e protéica¹⁹ dos atletas durante os exercícios extenuantes. A alimentação aliada a suplementação estariam agindo como pré-requisitos para um desempenho atlético máximo²⁴. O organismo degrada seqüencial e/ou simultaneamente creatina fosfato, carboidratos, lipídios e proteínas para formação de ATP^{4,33}. O estoque de carboidratos corporais é limitado⁸ e a sua ingestão durante os exercícios aumenta o aporte energético⁸, retarda a fadiga e restaura o glicogênio muscular¹⁰. Segundo Hargreaves⁴, o glicogênio muscular é um importante combustível para a contração dos músculos durante exercícios prolongados e extenuantes e a sua depleção implica em fadiga. O carboidrato é apontado por vários autores^{4, 5, 8, 21, 24} como principal substrato energético durante os exercícios, por este motivo ele foi a base de todas as suplementações oferecidas nesta pesquisa.

A escolha dos suplementos utilizados neste experimento baseou-se em confirmações científicas. Segundo Saris & van Loon,²⁴ a combinação de carboidratos e proteínas ou aminoácidos têm mostrado ser muito efetiva para acelerar a recuperação após exercícios extenuantes. Segundo Derave et al.,² a suplementação com carboidrato e creatina estimula, em maior grau, a expressão de GLUT 4 ao se comparar com placebo e creatina separadamente. A proteína GLUT 4 favorece a restauração do glicogênio muscular no pós-treino.⁶

van Loon²⁴ e Volek³¹ afirmam que a creatina aumenta a performance. Tristan et al.²⁷ constataram que a suplementação de creatina associada ao carboidrato influenciou positivamente na ressíntese do glicogênio após exercícios. Segundo Kuo et al.¹¹ a suplementação com carboidrato aumenta em 88% a expressão de GLUT 4, mostrando que mesmo administrado separadamente favorece a restauração do glicogênio muscular. No processo de glicogênese a principal enzima é a glicogênio-sintase (Gsase)^{15, 6} que age mais avidamente nos primeiros minutos após o treino⁶. Assim, a suplementação ajudaria na recuperação e serviria de substrato energético para exercícios posteriores.

Durante os testes deste estudo foram avaliadas as concentrações plasmáticas de lactato. Durante o século 20, o lactato foi considerado como o produto derivado do excesso de utilização da via glicolítica, definido como o causador de fadiga periférica e ainda a chave da acidose metabólica. Desde 1970, ocorreu uma revolução sobre o lactato. O paradigma do lactato mudou³. Agora o aumento na produção e concentração de lactato parece ser resultado da diminuição ou ausência de oxigenação cerebral^{3, 26}. A acidose láctica está sendo reavaliada como um fator causador da fadiga^{3, 23} e há evidências que ela age preservando a excitabilidade muscular quando os músculos tornam-se despolarizados, como ocorre durante os exercícios¹⁸. O lactato, atualmente, é considerado um intermediário importante no processo de reparação e regeneração da lesão muscular³. Robergs et al. (2004)²³ afirmam que não há suporte bioquímico claro que sustente a idéia de que o lactato cause fadiga, e sim que este a retarde. Sua produção é benéfica ao evitar o acúmulo de piruvato e ao restaurar NAD⁺, necessário para a segunda fase da glicólise, sendo a produção

O objetivo deste trabalho foi comparar a produção de lactato e a performance dos atletas durante um teste de esforço após a suplementação de carboidrato puro, carboidrato com creatina e carboidrato com aminoácidos.

Material e Métodos

Indivíduos

Foram selecionados, através de análise bioquímica (hemograma completo, lipidograma com frações, glicemia de jejum, função renal - creatinina e uréia; função hepática - transaminase glutâmica oxaloacética e transaminase glutâmica pirúvica; albumina plasmática), vinte indivíduos, do sexo masculino, saudáveis (peso: $72,9 \pm 6,68$; altura: $1,79 \pm 0,05$; idade: $21,54 \pm 4,40$), não fumantes, jogadores profissionais de futebol, com mesma rotina de treinamento. Todos os atletas foram informados da natureza do teste e assinaram um termo de consentimento conforme determina o Conselho Nacional de Saúde do Brasil, resolução 2/01, antes do início dos testes (Anexo V).

Procedimento Experimental

Foi verificado antes do teste: (a) se não haviam realizado exercício físico nas últimas 24 h, (b) se não haviam ingerido refrigerantes tipo cola ou guaraná, chá preto e café no dia em questão e (c) se a higiene bucal havia sido feita corretamente.

Os testes foram realizados entre 08:00 h e 12:00 h, com a temperatura da sala mantida em 25°C. A pesquisa baseou-se em duas etapas: a primeira foi considerada como pré-teste e a segunda em que os atletas passaram por um

protocolo de exercício, também em cicloergômetro, para a depleção do glicogênio muscular²⁹ e 1 hora após repetiram o teste da primeira etapa (pré-teste).

Durante os testes, a cada 2 minutos, era coletado sangue do lóbulo da orelha e saliva. A estimulação da secreção salivar foi feita com uma goma de mascar. Este estímulo aumenta o fluxo salivar de 0,7 mL/minuto para 1,6 a 2,0 mL/minuto⁷.

1ª etapa: Pré-teste:

Na primeira etapa foi feito o teste para determinar o VO₂ máximo dos 20 atletas. O teste foi feito num ciclo ergômetro (Ergofit 167, German) com incremento de 25 Watts a cada 2 minutos até a exaustão. Os resultados foram usados para determinar a carga de exercícios usado no protocolo de esgotamento de glicogênio muscular²⁹, que compôs a 2ª etapa da pesquisa. A frequência de rotação, no ciclo ergômetro, foi mantida entre 60 e 70 rpm. Previamente os voluntários realizaram alongamento e um aquecimento de dois minutos (sem carga na bicicleta). A frequência cardíaca foi mensurada com um freqüencímetro com interface (Polar, S610).

Após um mês foi realizada a 2ª etapa da pesquisa:

1º teste da 2ª etapa: Foi seguido o protocolo de Kuipers et al. appud van Loon (2000)²⁹ para se determinar o esgotamento do glicogênio muscular. E 1 hora após foi realizado:

2º teste da 2ª etapa: Similar ao teste da 1ª etapa para comparar os efeitos da diminuição dos níveis de glicogênio muscular e da suplementação nas variáveis analisadas.

Aos 10 minutos após o primeiro teste desta etapa, foram fornecidos os suplementos (bebidas). Sendo assim, houve um intervalo de 50 minutos entre a ingestão da bebida e o início do segundo teste desta etapa.

Bebidas

Aos 10 minutos após o término do primeiro teste da segunda etapa, cada participante recebeu a suplementação padronizada com volume total de 3,5 mL/kg²⁹, dissolvida em água gelada. As bebidas foram preparadas no mesmo dia, antes de se iniciar o teste e mantidas em refrigeração.

Quadro 1. Descrição da suplementação oferecida aos atletas.

Grupos divididos de acordo com a suplementação oferecida	Concentração
Controle	Água e 8 gotas de baunilha
Carboidratos	0,8 + 0,4g/kg/dia, sendo 0,6 g/kg de glicose e 0,6g/kg de maltodextrina
Carboidratos + Aminoácidos	0,8g/kg/dia + 0,4g/kg/dia respectivamente, sendo 0,4 g/kg de glicose e 0,4g/kg de maltodextrina. Aminoácido utilizado: Amino 2222 marca: Optimun Nutrition;
Carboidratos + Creatina	0,8g/kg/dia + 5g respectivamente - sendo 0,4 g/kg de glicose e 0,4g/kg de

	maltodextrina. Creatina utilizada: Pura - marca: Optimun Nutrition;
--	---------------------------------------------------------------------

Coleta e Análise da Saliva (Anexo I)

Durante os testes, a cada 2 minutos, era coletado sangue do lóbulo da orelha e saliva. A estimulação da secreção salivar foi feita com uma goma de mascar. Este estímulo aumenta o fluxo salivar de 0,7 mL/minuto para 1,6 a 2,0 mL/minuto⁷. Antes, durante e até cinco minutos após o término do teste, os atletas mascavam a goma (Trident, sabor menta) para que ocorresse esta estimulação⁷. A saliva foi coletada pelo método de cuspe segundo Navazesh¹³. Dez minutos antes do teste físico, coletou-se saliva estimulada durante os primeiros cinco minutos (saliva basal), onde a saliva dos dois primeiros minutos foi rejeitada e a dos três restantes era coletada numa proveta graduada, segundo Bortolini, (2003)¹. Avisava-se ao voluntário 30 segundos antes do término de cada estágio para que ele engolisse a saliva, mastigasse bem o chiclete e juntasse a saliva, a qual começava a ser coletada 10 segundos antes do término do estágio. A saliva era pré-resfriada por 1 hora e em seguida centrifugada a 14000 g (Backman Avant J centrifugue), o pélet foi rejeitado e o sobrenadante congelado a -20°C até a análise. Em cada mini-tubo separava-se 80 µL de saliva para se fazer a dosagem da proteína total e num outro tubo 20 µL para a análise da amilase salivar.

Coleta e Análise do Sangue (Anexos II e III)

Foi feita assepsia, do lóbulo da orelha, com álcool e em seguida furava-se o mesmo com uma lanceta. O sangue (25 µL) foi coletado com capilares heparinizados e colocados em mini-tubos com 50 µL de fluoreto de sódio e armazenados no gelo por no máximo 3 horas e em seguida congelado a -20°C.

O lactato sanguíneo foi analisado por método eletro-enzimático (lactate analyzer YSI 1500 Sport from Yellow Springs) (Anexo VI).

Hidratação (Água)

Quadro 2. Volumes e horários de oferta de água.

Etapa	Volume	Horário
1ª	200mL	No alongamento (pré-teste)
	200mL	5 minutos após o término do teste
2ª (1º teste)	200mL	No alongamento (pré-teste)
	200mL	Logo após o 1º teste desta etapa
	200mL	30 minutos após o 1º teste desta etapa
	200mL	50 minutos após o 1º teste

2ª (2º teste)	à vontade	Após o teste
---------------	-----------	--------------

Análise Estatística

Foi aplicado o teste t-student para amostras dependentes para identificar diferenças ou não, aplicando-o para se comparar as médias, obtidas em todos os estágios do teste a respeito do lactato comparando as duas etapas e também para se comparar os valores de lactato no 5º minuto pós-teste entre uma fase e outra. Através de análise de variância testou-se, em relação à suplementação, duas hipóteses, a primeira se a média dos tratamentos eram iguais e a segunda se pelo menos uma das médias dos tratamentos eram diferentes. E através do teste de Scott-Knott, complementou-se a análise para se afirmar qual dos grupos tinha a média diferente das demais.

Resultados

As curvas de lactato sanguíneo são mostrados nas figuras 1A e 4A e também na tabela 1 e percebe-se que com o aumento da intensidade ocorre um acúmulo de lactato. Nota-se que inicialmente a curva de lactato apresenta um comportamento linear e após o ponto do limiar anaeróbico a curva deixa de ter esta característica. A partir deste ponto de limiar o exercício passa a ser anaeróbico e conseqüentemente a produção energética ocorre através da via glicolítica, sendo o carboidrato o substrato fundamental, e assim o lactato tende a se acumular cada vez mais.

Observou-se ao comparar as médias dos valores de lactato da primeira e da segunda fase que são estatisticamente diferentes ($p < 0,05$), na segunda fase

os valores foram menores. E ao se avaliarem as médias de lactato do pós-teste, comparando a primeira e a segunda etapa, de suplementação utilizada, percebeu-se que os indivíduos que usaram com aminoácido, carboidrato com carboidrato e placebo tiveram lactato estatisticamente iguais no 5º minuto do pós-teste na primeira etapa. E o ao se comparar as médias de lactato no 5º minuto do pós-teste da primeira com a segunda etapa do grupo que usou carboidrato com creatina se que as médias foram estatisticamente diferentes ($p < 0,05$), ou seja, apresentou menores valores de lactato no 5º minuto do pós-teste da segunda etapa (fase da suplementação).

Através de análise de variância verificou-se que um dos grupos suplementados tinha médias de lactato diferentes entre a primeira e a segunda etapa e ao se aplicar o teste de Scott-Knott conclui-se que o grupo que recebeu a suplementação com carboidrato e creatina apresentou estas médias diferentes foi o suplementado com carboidrato e creatina.

Figura 1A: Comportamento do lactato sanguíneo de acordo com o aumento da carga do exercício
Voluntário: EPF

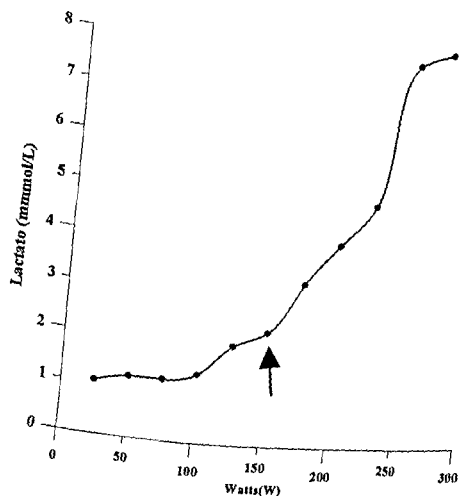
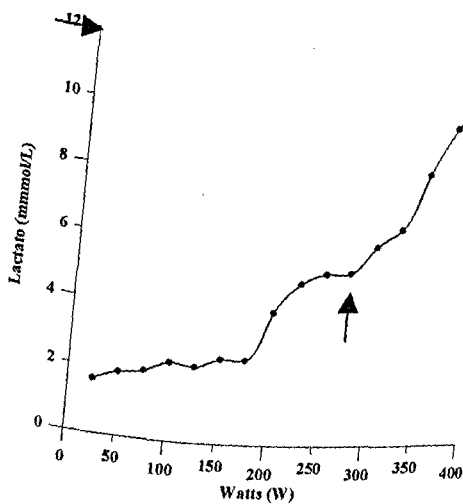


Figura 4A: Relação entre a intensidade do teste e a concentração de lactato sanguíneo.
Voluntário: RDM



Legenda: → - ponto de limiar anaeróbico

Figura 5: Relação entre o aumento das concentrações de proteína salivar e lactato sanguíneo.
Voluntário: RDM

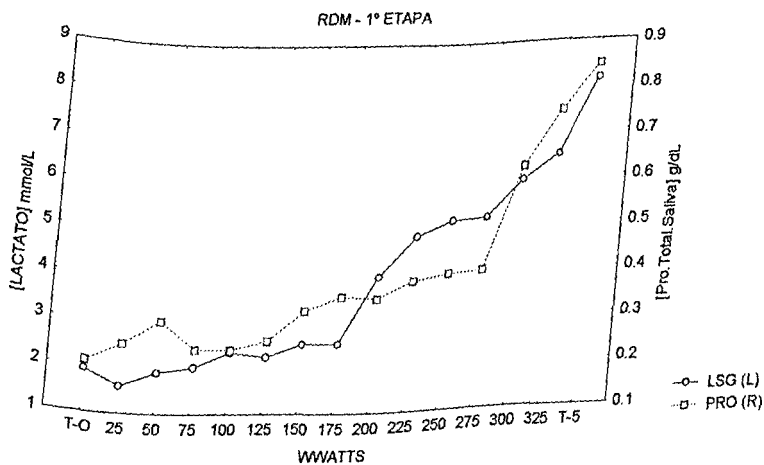


Tabela 1: Concentrações de proteína salivar, atividade da amilase, lactato durante o teste de esforço.

EPF		9 ml	25W	50W	75W	100W	125W	150W	175W
1 etapa	bpm		54	56	95	102	113	133	144
	LACT	1,02	1,05	1,2	1,2	1,35	1,95	2,25	3,24
	PRO	0,1625	0,325	0,38125	0,4375	0,5625	0,7875	0,8792	0,8802
	AMILASE	9940	16190	13320	16170	1908	20240	26280	28110
LOG		5ml	25W	50W	75W	100W	125W	150W	175W
1 etapa	bpm		51	64	77	77	89	93	108
	LACT	1,23	0,87	0,9	0,94	0,93	0,96	2,22	4,29
	PRO	0,287	0,333	0,333	0,39	0,342	0,243	0,381	0,38
	AMILASE	1290	3920	4290	3550	4130	6340	10650	12210
RDM		3 ml	25W	50W	75W	100 W	125 W	150 W	175W
2 etapa	bpm		59	78	81	108	113	127	140
	LAC	1,92	1,59	1,89	2,01	2,34	2,25	2,52	2,52
	PRO	0,21	0,25	0,3	0,24	0,24	0,26	0,324	0,354
	AMILASE	10514	11610	11850	14610	15410	16730	17700	18890
LOG		6 ml	25W	50W	75W	100 W	125 W	150 W	175W
2 etapa	bpm		64	81	86	89	98	106	119
	LAC	2,64	2,67	2,55	2,46	2,01	1,86	2,01	2,4
	PROT	0,658	0,85	0,625	0,3875	0,2625	0,5375	0,44375	0,26875
	AMILASE	5190	6860	6560	6720	5740	6040	6610	6730
200W	225W	250W	275W	300W	325W	350W	375W	400W	5 minutos
154	164	172	177						7,95
4,02	4,81	7,62	7,85						0,48125
0,901	0,954	0,982	1,013						24158
28110	27330	39990	44770						
200W	225W	250W	275W	300W	325W	350W	375W	400W	5 minutos
110	129	142	150	159	164	172	179	181	11,84
2,85	2,82	4,02	3,42	3,57	7,47	10,89	11,13	11,22	1,012
0,375	0,336	0,369	0,492	0,615	0,681	1,014	1,359	1,451	16290
14140	18720	20540	20090	17620	23420	27530	27950	27980	
200 W	225 W	250 W	275W	300W	325W	350W	375W	400 W	5 minutos
157	163	168	173	177	183	191	193	201	12,84
3,96	4,83	5,13	5,16	5,94	6,48	8,13	9,52	10,54	0,58
0,348	0,385	0,398	0,401	0,624	0,745	0,845	1,257	1,678	39754
29570	31920	32057	37542	39874	39957	40851	55400	60895	
200 W	225 W	250 W	275W	300W	325W	350W	375W	400 W	5 minutos
128	132	142	153	169	183	187	182	186	8,14
									0,54

Discussão

Ao se aplicar o teste t-student para comparar as médias de lactato, entre as duas fases, percebe-se que houve diferença nas médias ($p < 0,05$). Na segunda etapa da pesquisa os valores médios de lactato foram menores, sugerindo que a utilização de suplementos pode aumentar o aporte energético e retardar a fadiga periférica. Estes atletas conseguiram realizar um maior número de estágios na segunda fase. Sabe-se hoje que a produção de lactato não causa, e sim retarda a acidose²³. Continuamente o ATP é quebrado em ADP e P(i), logo um próton é constantemente liberado. Quando a produção de ATP é feita pela respiração mitocondrial, não ocorre acúmulo de prótons na célula, pois são usados para fosforilação oxidativa e para manter o gradiente de prótons no espaço entre membranas. Porém quando a intensidade do exercício aumenta além do limiar anaeróbico, é necessária uma maior produção de ATP pela glicólise e pelo sistema fosfogênico. Desta forma, ocorre um aumento na liberação de prótons, fora da mitocôndria, causando acidose metabólica²³. Estes dados mostram que, em exercícios acima do limiar anaeróbico, como os testes desta pesquisa, a suplementação com carboidrato e creatina seria a mais viável para aumentar a performance uma vez que os atletas estavam utilizando a via glicolítica e o sistema fosfogênico para a produção energética.

O grupo assim suplementado (carboidrato e creatina) conseguiu realizar um maior número de estágios na segunda etapa confirmando o benefício deste complemento (teste Scott-Knott). Ao comparar com o placebo e com a creatina pura, Derave et al.² observaram que a associação de carboidrato e creatina estimula, em maior grau, a expressão de GLUT 4 - proteína responsável por captar glicose, transportá-la para o meio intracelular e assim auxiliar na

restauração do glicogênio muscular^{6,20}. Esta associação determina melhor ressíntese do glicogênio e desencadeará um maior aporte energético para o teste seqüente - teste de esforço. Esta pesquisa reafirma este dado, pois o grupo que utilizou esta mistura obteve melhora na performance (teste Scott-Knott) certamente pela restauração do glicogênio muscular ter sido acelerada. É importante ressaltar que este grupo também obteve menor concentração de lactato no momento do pós-teste.

Volek³¹ ressaltou que a creatina teve efeito benéfico para a produção de energia e Tristan²⁷ referiu que a suplementação de creatina associada ao carboidrato, após o esgotamento do glicogênio muscular, influenciou positivamente na ressíntese de glicogênio no pós-treino.

A suplementação de carboidrato aumenta os níveis de glicose plasmática e conseqüentemente de insulina. van Hall et al.²⁸ mostraram as seguintes concentrações de insulina 70, 45 e 5mU/l para a ingestão de CHO/proteína, CHO e água respectivamente. Neste mesmo estudo ao se avaliar a restauração de glicogênio nos músculos da perna, especificamente, notou-se que o padrão foi de 52±7, 48±5 e 18±6 mmol/kg de músculo seco até os primeiros 90 minutos e deste momento até 4h de recuperação os valores diminuíram para 30±6, 36±3 e 8±6 mmol/kg de músculo seco respectivamente. van Loon et al.²⁹ reafirmam a idéia que carboidrato e creatina aumentam mais os níveis de insulina que um dos dois separadamente.

Nesta pesquisa, forneceu-se como base da suplementação 0,8g de carboidrato/kg dez minutos após o protocolo para depleção do glicogênio muscular. A suplementação ainda continha creatina ou mais carboidrato ou

aminoácido. No trabalho de van Loon et al.²⁹, houve diferença na recuperação do glicogênio muscular ao se fornecer 0,8g carboidrato/kg/hora e 1,2 g carboidrato/kg/hora em intervalos de 30 minutos. Percebe-se assim que o intervalo entre uma dose e outra é importante para manter o aporte nutricional otimizando a ressíntese do glicogênio muscular. Num estudo com jogadores de futebol, Nicholas et al.¹⁴ verificaram que o grupo suplementado com carboidrato utilizou 22% a menos do glicogênio muscular estocado para geração de energia, favorecendo a recuperação muscular. Welsh et al.³⁴, demonstraram que a ingestão de carboidrato retardou o tempo de fadiga em 37% e favoreceu as funções físicas e a concentração mental dos jogadores.

Como o grupo que apresentou melhora da performance foi o que usou carboidrato com creatina (teste Scott-Knott), não se sabe se o benefício foi gerado por um deles separadamente ou pela ação conjunta. Derave et al.² e Tristan et al.²⁷ descreveram o benefício desta combinação. Ostojic¹⁷ indicou que a suplementação de creatina em jogadores jovens de futebol também melhorou a habilidade específica e conseqüentemente a performance.

Não foram encontrados efeitos negativos da suplementação de creatina em atletas. Não há relatos de alterações da síntese endógena³⁰, das funções renal e hepática^{22,25}, do volume sanguíneo^{16,32}, da taxa de eletrólitos⁹ ou da pressão arterial¹².

Concluimos que a suplementação conjunta de 0,8 g/kg de carboidrato e 5 g de creatina logo após o atleta ter seguido um protocolo de depleção do glicogênio muscular foi benéfica para aumentar a performance no teste de esforço feito em seguida. Acreditamos que esta suplementação favoreceu a ressíntese do

capaz de reduzir a produção de lactato na segunda etapa d
estando os atletas trabalhando acima do limiar anaeróbico.

Referências Bibliográficas

- 1- Bortolini JR, M. A. Biomarcadores salivares do exercício físico para determinação do limiar anaeróbico humano. Uberlândia, 2003. 130p. Dissertação (Mestrado em Genética e Bioquímica) – Departamento de Genética e Bioquímica, Universidade Federal de Uberlândia.
- 2- Derave W, Eijnde, B O, Verbessem P, Ramaekers M, Van Leemputte M, Richter E A, Hespel, P. Combined creatine and protein supplementation in conjunction with resistance training promotes muscle GLUT 4 content and glucose tolerance in humans. *J Appl Physiol* 2003; 94: 1910-1916.
- 3- Gladden L B. (2004) Lactate metabolism: a new paradigm for the third millennium. *J Physiol.* Jul 1;558(Pt 1):5-30. Epub 2004 May 06.
- 4- Hargreaves M. (2004) Muscle glycogen and metabolic regulation. *Proc Nutr Soc* 63(2):217-20.
- 5- Hargreaves M, Hawley J A, Jeukendrup A. (2004) Pre-exercise carbohydrate and fat ingestion: effects on metabolism and performance. *J Sports Sci.* 22(1):31-8.
- 6- Ivy JL, Kuo CH. (1998) Regulation of GLUT4 protein and glycogen synthase during muscle glycogen synthesis after exercise. *Acta Physiol Scand.* 16 2(3):295-304.
- 7- Jensen et al. (1998) Salivary secretion: stimulatory effects of chewing-gum versus paraffin tablets. *Eur J. Oral Sci* 106: 892-896.

- 8- Knechtle B. Energy turnover in endurance exercise (2004) *Schweiz Rundsch Med Prax.* 17; 93(12):457-68.
- 9- Kreider, RB, Ferreira, M, Wilson, M, et al. (1998) Effects of creatine supplementation on body composition, strength, and sprint performance *Med Sci Sports Exerc* (30): 73-82.
- 10- Kuipers et al (1987) Carbohydrate feeding and glycogen synthesis during exercise in man. *Pflugers Arch.* 410: 652-6.
- 11-Kuo CH, Hwang H, Lee MC, Castle AL, Ivy JL. (2004) Role of insulin on exercise-induced GLUT-4 protein expression and glycogen supercompensation in rat skeletal muscle. *J Appl Physiol.* 96(2):621-7.
- 12-Mihic, S., MacDonald, JR., McKenzie, S., & Tarnopolsky, MA. (2000). Acute creatine loading increases fat-free mass, but does not affect blood pressure, plasma creatinine, or CK activity in men and women. *Med Sci Sports Exerc* (32) 291-296.
- 13-Navazesh M (1993) Methods for collecting saliva. *Ann N Y Acad Sci*, Saliva as a diagnostic fluid 694:72-77.
- 14-Nicholas et al. (1999) Carbohydrate-electrolyte ingestion during intermittent high-intensity running. *Med Sci Sports Exerc.* 31 (9):1280-6.
- 15-Nielsen J N, Wojtaszewski J F. (2004) Regulation of glycogen synthase activity and phosphorylation by exercise. *Proc Nutr Soc.* 63 (2): 233-7.
- 16-Oopik, V, Paasuke, M, Timpmann, S, Medijainen, L, Ereline, J, Smirnova, T (1998) Effect of creatine supplementation during rapid body

-
- mass reduction on metabolism and isokinetic muscle performance capacity. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* (78):83-92.
- 17-Ostojic S M (2004). Creatine supplementation in young soccer players. *Int J Sport Nutr Exerc Metab.* 14(1): 95-103.
- 18-Pedersen TH, Nielsen OB, Lamb GD, Stephenson DG. (2004) Intracellular acidosis enhances the excitability of working muscle. *Science.* 20;305(5687):1144-7.
- 19-Phillips, S M. (2004) Protein requirements and supplementation in strength sports. *Nutrition.* 20(7-8):689-95.
- 20-Price et al. (1994) Human muscle glycogen resynthesis after exercise: insulin-dependent and independent phases. *Appl Physiol.* 76 (1): 104-11.
- 21-Rauch H G, St Clair Gibson A, Lambert EV, Noakes T D. (2005) A signalling role for muscle glycogen in the regulation of pace during prolonged exercise. *Br J Sports Med.* 39(1):34-8.
- 22-Robinson, T M, Sewell, D A, Casey, A, Steenge, G, Greenhaff, PL. (2000). Dietary creatine supplementation does not affect some haematological indices, or indices of muscle damage and hepatic and renal function. *Br J Sports Med* (34) 284-288.
- 23-Robergs R A, Ghiasvand F, Parker D. (2004) Biochemistry of exercise-induced metabolic acidosis. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 287 (3): R502-16.

- 24-Saris W H, van Loon L J. (2004) Nutrition and health--nutrition and performance in sports. *Ned Tijdschr Geneeskd.* 10; 148 (15): 708-12.
- 25-Schilling, B K, Stone, M H, Utter, A., et al. (2001). Creatine supplementation and health variables: a retrospective study. *Med Sci Sports Exerc* (33): 183-188.
- 26-Shibuya K, Tanaka J, Kuboyama N, Ogaki T. (2004) Cerebral oxygenation during intermittent supramaximal exercise *Respir Physiol Neurobiol.* 20;140(2):165-72.
- 27-Tristan, M, Robinson, D. A., Sewell, E. H., Paul, L. G (1999). Role submaximal exercise in promoting creatine and glycogen accumulation in human skeletal muscle. *Am Physiol Society.* 8750: 7587 - 99.
- 28-van Hall G, Shirreffs S M, Calbet J A. (2000) Muscle glycogen resynthesis during recovery from cycle exercise: no effect of additional protein ingestion. *J Appl Physiol.* (5):1631-6.
- 29-van Lon, L J C, Saris, W H M, Kruijshoop, M & Wagenmakers, A J M (2000) Maximizing postexercise muscle glycogen synthesis: carbohydrate supplementation and the application of amino acid or protein hydrolysate mixtures. *Am J Clin Nutr* (72): 106-11.
- 30-Vandenberghe, K, Goris, M, Van Hecke, P, Van Leemputte, M, Vangerven, L, & Hespel, P (1997). Long-term creatine intake is beneficial to muscle performance during resistance training. *J Appl Physiol* (83): 2055-2063.

-
- 31-Volek, J S, Kraemer, W J, Bus, J A, Boetes, M, Incledon, T, Clark, K L, Lynch, J M (1997). Creatine supplementation enhances muscular performance during high-intensity resistance exercise. *J Am. Diet Assoc.* 97 (7): 765 – 770.
- 32-Volek, J S, Mazzetti, S A, Farquhar, W B, Barnes, B R, Gomez, A L, Kraemer, W J. (2001) Physiological responses to short-term exercise in the heat after creatine loading *Med Sci Sports Exerc* (33): 1101–1108.
- 33-Volek J S, Rawson E S (2004). Scientific basis and practical aspects of creatine supplementation for athletes. *Nutrition.* 20 (7-8):609 – 14.
- 34- Welsh et al. (2002). Carbohydrates and physical/ mental performance during intermittent exercise to fatigue . *Med Sci Sports Exerc.* 34 (4): 723-31.

Avaliação dos hábitos alimentares, perfil antropométrico e volume de reidratação de jogadores de futebol profissionais

Juliana Hubaide Carneiro, Daniela Name Chaul, Foued Salmen Espíndola –
Laboratório de Bioquímica e Biologia Molecular / Universidade Federal de
Uberlândia – Uberlândia / Minas Gerais / Brasil

RESUMO

No futebol como em outros esportes, o perfil nutricional e a hidratação adequados associados ao programa de treinamento são determinantes para o performance. A avaliação nutricional é um fator importante para a elaboração e adesão à dieta. O objetivo deste trabalho foi identificar o perfil alimentar, antropométrico e de reidratação dos jogadores de futebol, visando estabelecer possíveis metas de intervenção nutricional. Participaram deste estudo 13 jogadores de futebol da Associação Desportiva UNITRI. O volume de reidratação dos atletas ($n=13$) foi avaliado durante uma partida de futebol através da diferença entre a perda de peso total e a ingestão hídrica. A avaliação dietética através de inquéritos alimentares e a antropométrica pela determinação do Índice de Massa Corporal (IMC), Área Muscular do Braço (AMB) e percentual de gordura foram avaliadas pelas variáveis idade, peso, estatura, pregas cutâneas (abdominal, tricipital e coxa) e circunferência braquial no ponto médio estenderam-se nos sujeitos. A composição média de gorduras, proteínas e carboidratos presentes na dieta habitual dos atletas foi $29,92\pm 8,05$; $21,16\pm 7,08$ e $48,72\pm 8,05$ respectivamente. A idade variou entre 18 e 31 anos; o peso entre 55,6 e 81,5 kg; a estatura entre 163 e 190 cm; o IMC entre 18,7 e 26,8 kg/m^2 ; o percentual de gordura corporal entre 3,8 e 19,4% e a AMB entre 40,7 e 81,5 cm^2 . C

reidratação médio observado foi de 0,94 L. Conclui-se que os jogadores estudados apresentam uma dieta habitual inadequada em macronutrientes, perfil antropométrico satisfatório e ingestão hídrica aquém das recomendações, sendo necessária a intervenção nutricional visando modificações comportamentais.

Palavras-chave: Nutrição, futebol, hidratação, antropometria.

INTRODUÇÃO

No futebol como em outros esportes, o perfil nutricional e a hidratação são determinantes da performance^{1,2}. Este perfil, quando adequado, pode garantir os treinos intensivos que promoverão as adaptações morfológicas, fisiológicas e bioquímicas necessárias para o alcance da excelência³. A inter-relação dieta-treino deve visar a manutenção do estoque energético para o trabalho muscular e de outros tecidos, promover a adaptação, crescimento e reparação tissular, manter ou promover a composição corporal ideal para o esporte e estimular a resistência e a função imunológica^{3,4}.

Uma hidratação adequada é essencial para preservar todas as funções fisiológicas durante a atividade física e é um dos principais aspectos a ser considerado antes, durante e depois da prática de exercícios^{5,6}. A desidratação tem um impacto progressivamente negativo no desempenho, podendo comprometer a performance com uma modesta perda de 2% do peso corporal. O aumento desta perda prejudicará a capacidade de trabalho, a função cognitiva e a integridade do sistema cardiovascular^{5,6,7,8,9}.

A avaliação nutricional é um fator importante para elaboração e adesão à dieta. A anamnese alimentar criteriosa permite que se estabeleçam as estratégias

para introdução das eventuais modificações dietéticas necessárias durante o treino e competição dos atletas¹⁰. A intervenção nutricional imediatamente antes ou durante os exercícios inclui estratégias que visam maximizar o estoque energético para retardar o início da fadiga, minimizar os efeitos negativos da desidratação e do sistema nervoso central³.

O objetivo deste trabalho foi identificar o perfil alimentar, antropométrico e de reidratação dos jogadores de futebol, visando estabelecer as possíveis metas de intervenção nutricional.

MÉTODOS

Sujeitos

Indivíduos

Fizeram parte deste estudo 28 atletas saudáveis, do sexo masculino, da Associação Desportiva UNITRI (Universidade do Triângulo), selecionados através de análise bioquímica (hemograma completo, lipidograma com frações, glicemia de jejum, função renal - creatinina e uréia; função hepática - transaminase glutâmica oxaloacética e transaminase glutâmica pirúvica; albumina plasmática).

A participação dos atletas foi realizada mediante a assinatura do termo de consentimento informado e este estudo foi autorizado pelo Comitê de Ética e Pesquisa da Universidade Federal de Uberlândia (Anexo V).

Avaliação Dietética

A ingestão de nutrientes foi avaliada através de um questionário de frequência de consumo de alimentos, um recordatório 24h e uma anamnese alimentar enfatizando a ingestão habitual em períodos pré e pós-treino, dos 28 atletas.

Ingestão Hídrica

Para determinação da ingestão hídrica foram avaliados 13 atletas em momentos antes, durante e logo após uma partida de futebol dentro do campeonato vigente em Uberlândia no ano de 2004.

Foi fornecida uma garrafa de 500 mL de água mineral para cada atleta e os mesmos foram orientados a enchê-las novamente somente quando a garrafa estivesse totalmente vazia. Todos os sujeitos foram prevenidos a não se molharem com o conteúdo da garrafa. Foram contadas quantas vezes cada indivíduo encheu a garrafa e ao final do jogo o volume restante foi mensurado em provetas graduadas, possibilitando assim o cálculo do volume total ingerido.

Antropometria

Foram determinadas as seguintes variáveis em cada atleta (28 atletas): o peso total, a estatura total, quatro dobras cutâneas (abdominal, peitoral, tricipital e coxa) e a circunferência braquial no ponto médio.

O peso foi medido em uma balança *Filizola* com precisão de 100g; a estatura, através de uma escala métrica vertical com precisão de 1mm, a espessura das dobras cutâneas foi aferida com um compasso científico tipo *Lange* com precisão de 0,2mm e as circunferências obtidas com o auxílio de uma fita métrica inelástica *Sanny* com precisão de 1mm.

O percentual de gordura corporal foi determinado através do protocolo de *Pollock et al.* corrigido por *Siri*¹¹, a área muscular do braço (AMB) de acordo com *Jelliffe*¹² e o índice de massa corporal (IMC) segundo *Garrow e Webster*¹³.

Análise Estatística

Os dados obtidos foram apresentados através de valores mínimos e máximos, média e desvio padrão.

RESULTADOS

A tabela 1 apresenta a média, o desvio-padrão e os valores mínimo e máximo da ingestão energética, dos macronutrientes e da ingestão de carboidratos na primeira hora pós-treino obtidos a partir do cálculo de dados do recordatório 24 horas e da anamnese alimentar. Percebe-se a heterogeneidade na ingestão energética do grupo, sendo a dieta pobre em carboidratos e rica em gordura e proteína. A ingestão de carboidrato no pós-treino encontra-se aquém do recomendado na Diretriz da Sociedade Brasileira de Medicina no Esporte¹⁰.

Nota-se pela tabela 2 que a média de peso dos jogadores e do percentual de gordura corporal caracteriza um grupo eutrófico. Quanto a AMB, a média representa um valor entre os percentis 50 e 75, indicando normalidade de acordo com valores referenciais descritos por Bishop¹⁴.

A perda de peso no primeiro tempo mostrou-se maior que no segundo. Na avaliação da perda ponderal total, percebe-se que a recomendação do American College of Sports Medicine¹⁵ para o volume de reidratação – 450 a 675 mL para cada 0,5 kg de peso perdido não foi atingida (tabela 3).

De acordo com a tabela 4 todos os grupos encontram-se eutróficos, porém o grupo estudado apresenta um menor percentual de gordura corporal, provavelmente decorrente da fase de treinamento intenso durante a coleta dos dados.

TABELA 1
Média, desvio padrão, valores mínimo e máximo de energia, macronutrientes e da ingestão de carboidratos na primeira hora pós-treino dos 28 atletas do estudo

Variáveis	Média	Desvio-padrão	Mínimo	Máximo
Energia (kcal)	2.426,00	949,30	562,50	4.923,80
Carboidratos (%)	48,72	11,29	26,72	67,50
Proteínas (%)	21,16	7,08	10,55	36,95
Lipídios (%)	29,92	8,05	15,60	53,82
Carboidratos pós-treino (g)	35,96	13,57	14,90	60,20

TABELA 2
Média, desvio padrão, valores mínimo e máximo de variáveis coletadas dos 28 sujeitos do estudo

Variáveis	Média	Desvio-padrão	Mínimo	Máximo
Idade (anos)	23,50	3,54	18,00	31,00
Peso corporal (kg)	74,48	9,11	55,60	90,20
Estatutura (cm)	178,00	6,85	163,00	190,00
IMC (kg/m ²)	22,96	1,86	18,70	26,83
Gordura corporal (%)	9,01	3,68	3,80	19,40
AMB (cm ²)	55,65	8,83	40,70	81,50

TABELA 3
Média, desvio padrão, valores mínimo e máximo da perda de peso e do volume de reidratação dos 13 sujeitos participantes da partida.

Variáveis	Média	Desvio-padrão	Mínimo	Máximo
Perda de peso 1º tempo (kg)	1,36	0,32	0,60	1,80
Perda de peso 2º tempo (kg)	0,55	0,27	0,20	1,00

TABELA 4
Perfil antropométrico de grupos de jogadores de futebol descrito em outros estudos

Fontes	Idade (anos)	Peso (kg)	Estatura (cm)	IMC (kg/m ²)	GC (%)
Jogadores desta pesquisa	23,5±3,5	74,4±9,1	178±6,8	22,9±1,8	9,0±3,6
Jogadores turcos (Ozçakar et al., 2003)	23,6±3,5	76,1±8,3	181±5,0	23,2±1,7	-
Jogadores argentinos (Wittich et al., 1998)	23,4±2,7	74,4±6,4	176±5,3	23,8±1,3	19,8±5,1

DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

Os jogadores de futebol apresentam, em geral, uma dieta rica em gorduras (29,92% ± 8,05) e em proteínas (média de 1,7 g/kg/dia), porém muito pobre em carboidratos (média de 3,97g/kg/dia) (Tabela 1). A ingestão recomendada é de 6 a 10g/kg/dia e a inadequação prejudica a maximização do estoque de glicogênio muscular e a produção energética^{18,19}.

A fadiga durante o jogo está associada à depleção das reservas de glicogênio muscular, limitando a capacidade do jogador em manter a alta intensidade das corridas no final do jogo. Em caso de inadequação de energia não protéicas, particularmente dos carboidratos, parte dos aminoácidos será utilizada na preservação da glicemia, acompanhando perda de massa magra¹⁹. É importante ressaltar que o estoque de carboidrato corporal é limitado, assim precisa ser repostado logo após o treino para...

máxima da enzima glicogênio sintase, enzima responsável pela restauração do glicogênio muscular²⁰. Na análise das anamneses verificou-se que a ingestão de carboidratos, neste momento, não atingiu a recomendação (0,7 a 1,5 g/kg)¹⁵ perfazendo um valor médio de 42,9% (tabela 1).

Segundo Welsh et al.²¹, a ingestão de carboidrato, por jogadores de futebol, favorece as funções mentais e beneficia a performance, retardando o tempo de fadiga em 37%. van Loon et al.¹⁹, constataram que a ingestão de 0,8g de carboidrato/kg/hora, fornecida em intervalos de 30 minutos, resultou num aumento significativo nas taxas de síntese de glicogênio (113%) durante um período de 5 horas pós-exercício. Ao aumentar este aporte (1,2 g/kg/hora) a síntese de glicogênio também aumentou para 170%. Em contraste, Ivy et al. appud van Loon et al.¹⁹, não observaram diferenças significativas nas taxas de armazenamento de glicogênio após fornecer aos atletas 0,75 e 1,5 g carboidrato/kg/hora ingeridos num intervalo de 2 horas.

O desvio-padrão da ingestão de energia e macronutrientes realmente encontra-se alto pelo fato de não ter sido o objetivo do trabalho controlar a ingestão dietética, a não ser de substâncias que poderiam comprometer o teste. O foco foi conhecer o hábito alimentar destes desportistas. Ao se analisar o coeficiente de variância, em relação à energia e macronutrientes, nota-se que a ingestão dietética entre os jogadores é muito variada, a ingestão alimentar dos mesmos é bem heterogênea.

Em relação às medidas antropométricas, os mesmos, encontram-se eutróficos...

jogadores deste estudo é menor quando comparada a de outros atletas com a mesma média de idade (tabela 4), isto pode estar relacionado ao fato dos mesmos estarem em uma fase de treinamento intenso.

É consenso que a ingestão hídrica deve ser suficiente para repor as perdas durante o exercício²². Maughan *et al.*²³, observaram em jogadores uma perda de peso média de $1,1 \pm 0,54$ kg e um volume de reidratação de $0,97 \pm 0,30$ L, valor bem próximo à adequação. A quantidade de reidratação depende do clima²⁴. Em países quentes e úmidos, o risco de desidratação e suas conseqüências deletérias durante o exercício é maior, e o volume hídrico a ser repostado deve ser proporcional à perda^{15,25}. O volume de água ingerido pelos sujeitos deste estudo foi muito aquém do recomendado (tabela 3). A reidratação média foi menor que 50% da necessidade. A perda de peso dos atletas foi maior no primeiro tempo e está diretamente ligada a posição dos jogadores e ao tempo total de jogo. O goleiro perdeu bem menos peso quando comparado com zagueiros, atacantes e volantes.

Conclui-se que a dieta dos jogadores estudados está inadequada em relação à distribuição dos macronutrientes, ao horário e a quantidade de carboidrato pós-treino e volume de reidratação. Apesar destes aspectos negativos o perfil antropométrico é satisfatório de acordo com as variáveis analisadas. Faz-se necessário um trabalho de reeducação nutricional, ao longo de toda a temporada, enfocando a importância da alimentação equilibrada e da hidratação para o bem estar, para otimização do perfil antropométrico e da performance.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Lima GGR; Percego D. A importância da nutrição no futebol. *Nutrição e Performance* 2001; 13:13 – 17.
2. Galloway SD. Dehydration, rehydration, and exercise in the heat: rehydration strategies for athletic competition. *Can J Appl Physiol* 1999; 24:188-200.
3. Maughan R. The athlete's diet: nutritional goals and dietary strategies. *Proceedings of the Nutrition Society* 2002; 61:87-96.
4. Coyle EF. Physical activity as a metabolic stressor. *Am J Clin Nutr* 2000; 72 (suppl):512S-20S.
5. Gatorade Sport Science Institute. Consenso. Atividade física no calor: regulação térmica e hidratação. 1999; 1-13.
6. Monteiro CR; Guerra I; Barros, TL. Hydration in soccer: a review. *Rev Bras Med Esporte* 2003; 9(4):243-246.
7. Sawka MN; Montain SJ. Fluid and electrolyte supplementation for

8. Silva AI; Fernandez R. Dehydration of football referees during a match. *Br J Sports Med* 2003; 37:502-506.
9. Guerra I; Chaves R; Barros T; Tirapegui J. The influence of fluid ingestion on performance of soccer players during a match. *Journal of Sport Science and Medicine* 2004; 3:198-202.
10. Carvalho T; Rodrigues T; Meyer F; Lancha Jr. AH; De Rose EH et al. Diretriz da Sociedade Brasileira de Medicina do Esporte: Modificações dietéticas, reposição hídrica, suplementos alimentares e drogas: comprovação de ação ergogênica e potenciais riscos para saúde. *Bras Med Esporte* 2003; 9(2):1-13.
11. Filho JF. A prática da avaliação física. Rio de Janeiro: Shape, 1999.
12. Jelliffe DB. The assessment of the nutritional status of the community. *Monogr Ser World Health Organ* 1966; 53:3-271.
13. Garrow JS; Webster J. Quetelet's index (w/ H²) as a measure of fatness. *Int. J. Obes* 1985; 9:147-53.
14. Bishop CW. Reference values for arm muscle area, arm subscapular skinfold thickness, and sum of skinfold thickness in American adults. *J Parenter Enteral Nutr* 1984; 8(5):515-22.

15. American College of Sports Medicine. Nutrition and athletic performance. *Med Sci Sports Exerc* 2000; 2130-45.
16. Ozçakar L; Çetin A; Kunderacyođlu B; Ülkar B. Comparative body fat assessment in elite footballers. *Br J Sports Med* 2003; 37: 278-279.
17. Wittich A; Mautalen CA; Oliveri MB; Bagur A; Somoza F; Rotemberg E. Professional football (soccer) players have a markedly greater skeletal mineral content, density and size than age-and BMI – Matched Controls. *Calcif Tissue Int* 1998; 63:112-117.
18. Clark K. Nutritional guidance to soccer players for training and competition. *J Sports Sci* 1994; 12: S43-50.
19. van Loon JCL. Maximizing postexercise muscle glycogen synthesis: carbohydrate supplementation and the application of amino acid or protein hydrolysis mixtures. *Am J Clin Nutr* 2000; 72: 106-11.
20. Ivy JL; Kuo CH. Regulation of GLUT4 protein and glycogen synthase during muscle glycogen synthesis after exercise. *Acta Physiol Scand* 1998; 16 (3):295-304.
21. Welsh et al. Carbohydrates and physical/ mental performance during intermittent exercise to fatigue. *Med Sci Sports Exerc* 2002; 34 (4):

723-31.

22. Rehrer MJ. Fluid and electrolyte balance in ultra-endurance sport. *Sports Med* 2001; 31(10): 701-15.

23. Maughan RJ; Merson SJ; Broad AP; Shirreffs SM. Fluid and electrolyte intake and loss in soccer players during training. *Int J Sport Nutr Exerc Metab* 2004; 14(3):333-46.

24. Maughan RJ; Leiper JB. Fluid replacement requirements in soccer. *J Sports Sci* 1994; 12: 529-34.

25. Sulir JA, Hall J, Patterson SM, Niinisto RT. The relation of hydration status to cognitive performance in healthy older adults. *Int J Psychophysiol* 2004; 53(2):121-5.

CONCLUSÃO GERAL

A respeito da relação entre exercício, produção de lactato e alteração da composição salivar, conclui-se que as concentrações de lactato, proteína total e atividade da amilase salivar aumentam durante exercícios com incremento de carga. Enfatiza-se assim, a alternativa de se avaliar o limiar anaeróbico a partir da proteína, pois existe alta correlação com o limiar de lactato sanguíneo. Reafirmamos, ainda, o fato da atividade da alfa-amilase ser usada como um excelente índice de estresse seja ele de ordem física, psicológica ou patológica, salientando a vantagem de ser fonte alternativa de análise não-invasiva.

Com relação a suplementação, concluímos que a complementação conjunta de 0,8 g/kg de carboidrato e 5 g de creatina logo após o atleta ter seguido um protocolo de depleção do glicogênio muscular foi benéfica para aumentar a performance no teste de esforço feito em seguida. Acreditamos que esta suplementação favoreceu a ressíntese do glicogênio muscular entre os testes. Verificamos também que este suplemento foi capaz de reduzir a produção de lactato na segunda etapa da pesquisa mesmo estando os atletas trabalhando acima do limiar anaeróbico.

E ainda conclui-se que a dieta dos jogadores estudados está inadequada em relação à distribuição dos macronutrientes, ao horário e a quantidade de carboidrato pós-treino e volume de reidratação. Apesar destes aspectos negativos o perfil antropométrico é satisfatório de acordo com as variáveis analisadas. Faz-se necessário um trabalho de reeducação nutricional, ao longo de toda a temporada, enfocando a importância da alimentação equilibrada e da hidratação para o bem estar, para otimização do perfil antropométrico e da performance.

ANEXO- I - PROTOCOLO DE COLETA DE FLUXO SALIVAR

Material Utilizado:

1. Caixa de isopor
2. Gelo
3. Proveta de 50mL
4. Chicletes
5. Guardanapo de papel
6. Eppendorfs, de 0,6 e 1,5mL, resfriados e já identificados (de acordo com o n.º de alíquotas).
7. Becker para descarte.
8. Suporte para eppendorfs.
9. Pipeta de 1000µL com ponteiras.
10. Descarte para ponteiras.
11. Mensurador de frequência cardíaca (Polar 610).
12. Cronômetro.

Procedimento de coleta do fluxo salivar

Após seguir as recomendações da tabela acima, principalmente "instruções prévias", e também preparar os materiais a serem utilizados siga os passos abaixo.

1. Identificar tubos de eppendorfs 1,5mL antes de começar a coleta
2. Colocar: FLT (Fluxo controle).
 - a. Três letras, para o ID do voluntário, sendo estas as primeiras do nome do voluntário (Ex.: Luiz Carlos V. S. Jr. = LCV) letra dos três 1º nomes. Caso a pessoa tenha, entre nomes e sobrenomes, menos de três, adicione a letra X.
 - b. Identificar tubos de eppendorfs 0,6mL antes de começar a coleta, para cada voluntário do item 2a fazer 7 destes, identificando-os no item 2ae acrescentando as siglas AMY (amilase), ALB (Albumina), NOX (Óxido Nítrico), ELE (Eletrólitos), PRO (Proteína Total), GEL (SDS-PAGE).
3. Pré pese a proveta e anote o resultado.
4. Certifique-se do correto andamento dos procedimentos.
5. Coloque a proveta dentro da caixa de isopor com gelo.
6. Deixe o guardanapo à mão do voluntário.
7. Coloque o Mensurador de frequência cardíaca no voluntário (Polar-S610) e inicie simultaneamente a coleta.
8. Logo antes de começar a marcar o tempo, peça ao voluntário que esvazie a boca, e a enxágue três vezes com água destilada ou desionizada.
9. Deve-se esclarecer ao voluntário a importância dele cuspir toda saliva na proveta, e não engolir nada e etc.
10. A frequência de mastigação deve ficar em +/- 1/min.
11. Com o cronômetro à mão, dê o chiclete ao voluntário.

Tabela - 25

TABELA DE INSTRUÇÕES PRÉVIAS PARA COLETA DE SALIVA NO TESTE ERGOMÉTRICO				
Procedimento quanto ao material	Procedimento quanto ao local	Procedimentos quanto à pessoa		
Manter a saliva no gelo	A luminosidade e o som devem ser padronizados.	Instruções Prévias (0,5 -2 horas antes)	Logo Antes da Coleta	Durante a coleta
Centrifugação prévia.	*A umidade do ar deve estar adequada.	Higiene Bucal Hidratação - Ingerir 400mL de H ₂ O.	Enxaguar a boca com H ₂ O destilada ou desionizada	Deve-se descartar toda saliva durante 10' de coleta
Tubos resfriados.	O cheiro do ambiente deve ser sempre o mesmo.	Abster-se de: Cigarro Comida		Não deixar contaminar a saliva com suor
Congelar até a análise.	*A temperatura deve estar entre 21-25°C.	Bebida (café, Chá) Drogas (incluindo medicamentos simpatomiméticos)	Descartar a saliva dos primeiros 2'	Seguir as recomendações do teste de esteira.

Baseada em PANDAL, S., 1990 apud BODIS HAREGEWOIN, 1993; NAVAZESH, 1993; WILSON, 1993; CHATTERTO, 1996; SHIRTCLIFF, 2001; NEDERFORS e DAHLÖF, 1992; ERICSON e TWETMAN, 1995; MORRISON, et al., 2003.

12. Ao seu mando de voz, o voluntário deve colocar o chiclete na boca e mascar.
13. Obs.: ele deve mastigá-lo sempre a uma mesma frequência e alterando os lados da boca.
14. Com um outro mando de voz, o voluntário deve descartar a saliva no Becker de descartar (durante 2 minutos num copo descartável e 3 minutos em uma proveta graduada).
15. Quando o tempo estipulado estiver terminando deve-se avisar ao voluntário para que cuspa e esvazie totalmente a boca nos últimos dez segundos finais.
16. Após isso, o voluntário estará liberado da coleta de fluxo salivar.
17. Pese a proveta com saliva, diminua o peso dela sem a saliva e anote.
17. Espere 5 minutos, deixe a saliva parada na proveta e anote o fluxo.

Para a análise da saliva

1. Centrifugue a saliva de acordo com o recomendado (10 minutos; 4°C à 14000g de acordo com os testes).
2. Retire o sobrenadante, aliquote-os em eppendorfs e congele-os (no freezer a -80 °C ou a -20 °C, de acordo com o tempo para futura análise).
3. Todas amostras deverão ser aliquotadas, quando o volume for suficiente, em sete partes. Para o Projeto de exercício em esteira
 - I. Amilase - 20µL;
 - II. Proteína total - 80µL;
 - III. Eletrólitos (Na⁺ e K⁺) - 80µL;
 - IV. Óxido Nítrico-250µL;
 - V. Albumina-250µL;
 - VI. Gel comum - 50µL;
 - VII. Gel para metaloprotease - 50µL.
 - VIII. Imunoglobulinas - 100 µL.

ANEXO- II - PROTOCOLO DE ANÁLISE DO LACTATO

Tabela - 26

RECEITA PARA FAZER 2L DO TAMPÃO "YSI" PARA LACTÍMETRO		
SUBSTÂNCIA	FÓRMULA MOLECULAR	QUANTIDADE
EDTA (Etileno dinitrilo) Ácido tetracético dissódio sal hidratado	$C_{10}H_{14}O_8N_2Na_2 \cdot 2H_2O$	1,08g
Ácido Benzóico	C_6H_5COOH	1,65g
Sódio fosfato monobásico	$NaH_2PO_4 \cdot H_2O$	3,2g
Sódio fosfato	NaH_2PO_4	7,72g
Cloreto de sódio	$NaCl$	6,152
Cloreto de Potássio	KCl	0,662g
Triton X-100	$C_{14}H_{21}-O-(CH_2-CH_2-O)_n-H$	2,0mL

Solução Tampão "YSI":

Pesar os sais, colocá-los em Becker de 500mL e dissolvê-los (usar agitador magnético).

Após estar totalmente dissolvido, colocá-lo em um balão volumétrico acima de 2L, pipetar 2,0mL de Triton X-100, e completar o volume. Agitar (usar agitador magnético) até estar bem homogêneo.

Solução Referência "YSI":

Pipetar 9,0mL de solução tampão de Lactato 30mmol/L em um balão volumétrico (1L) e completar com tampão "YSI" para 1L agitar bem (usar agitador magnético).

CALIBRAÇÃO DO LACTÍMETRO "YSI"

1. Colocar a solução tampão "YSI" no recipiente "BUFFER".
2. Colocar a solução referência "YSI" no recipiente "REFERENCE".
3. Lavar "PRIMER" a câmara de reação (mínimo de 3X) e aguardar a polarização da membrana de 6nA (Lavando a câmara de reação algumas vezes).
4. Para calibrar: entrar no modo "CAL" e quando solicitado, injetar 25 μ L de solução padrão de lactato 5mmol/L. Repetir para confirmação.
P.S.(1): A calibração deve ser feita a cada 10 amostras.
5. Está pronto para dosar as amostras.

P.S.(2): Testar a linearidade da membrana, periodicamente (antes do início das dosagens) com a solução de lactato (15 e 30mmol/L) YSI.

ANEXO- III - COLETA E ANÁLISE SANGÜÍNEA

Material Utilizado:

- 1) Capilares eparinizados.
- 2) Lanceta (02).
- 3) Luvas cirúrgicas.
- 4) Álcool
- 5) Algodão
- 6) Lactímetro
- 7) Eppendorfs de 1,5mL.
- 8) Eparina.
- 9) Solução de Fluoreto de Sódio a 1%.
- 10) Óculos protetor.
- 11) Caixa com Gelo.

Procedimento prévios:

Calibrar os capilares.

Identificar os eppendorfs; colocar 50 μ L de fluoreto de sódio a 1%; e colocá-los no gelo.

Realizar a assepsia do local com álcool.

Furar o lobo da orelha com lanceta descartável.

Procedimento de coleta

Estimular o lobo da orelha.

Secar bem a pele antes de começar a coletar, para evitar contaminação com suor.

Coletar 25 μ L de sangue e colocar no eppendorf.

Congelar (-20°C) e realizar a análise.

ANEXO IV



Universidade Federal de Uberlândia

Faculdade de Educação Física

Uberlândia, 29 de setembro de 2004.

Venho através deste esclarecer a permissão à mestrande Juliana Hubaide Carneiro para utilizar o Laboratório de Fisiologia da Faculdade de Educação Física, para a realização dos testes ergométricos com os atletas de futebol, objetos de sua pesquisa.

Atenciosamente,

Guilherme Goulart de Agostine

ANEXO V: TERMO DE CONSENTIMENTO DO VOLUNTÁRIO

(Conselho Nacional de Saúde, Resolução 196/96)

Eu _____, RG _____, nascido em ___/___/___ e domiciliado à _____ município de _____, usuário (ou responsável legal pelo usuário _____), declaro que consinto em participar como voluntário do Projeto de pesquisa. "ESTUDO DE BIOMARCADORES SALIVARES DURANTE TESTE ERGOMÉTRICO EM ESTEIRA COM CARGAS CRESCENTES" sob responsabilidade de Prof. Dr. Foued Salmen Espindola. Declaro que fui satisfatoriamente esclarecido que: a) o estudo será realizado com amostras de saliva e sangue (coletado do lóbulo da orelha) para pesquisa de biomarcadores na saliva e avaliação de lactato sangüíneo, sendo que os dois fluidos serão coletados durante o teste ergométrico; b) posso consultar o pesquisador em qualquer época, pessoalmente ou pelo telefone (0XX) 34 3218-2477, para esclarecimento de quaisquer dúvidas; c) estou livre para a qualquer momento deixar de participar da pesquisa sem apresentar justificativa e sem prejuízo a minha pessoa; d) todas as informações por mim fornecidas e os resultados individuais obtidos serão mantidos em sigilo e que, os resultados coletivos serão divulgados em reuniões e revistas científicas. Este estudo será importante na investigação de biomarcadores salivares e plasmáticos; e também na utilização de metodologias de avaliação clínica, bioquímica e interpretação dos exames ergométricos para aplicação dos métodos de análise nos parâmetros investigativos. Estou ciente do protocolo deste trabalho na forma de entrevista, análises bioquímicas, clínicas e avaliações físicas, a qual é de suma importância minha contribuição.

Assim, consinto em participar do Projeto de Pesquisa em questão.

_____, _____ de _____ de _____.

Usuário/Responsável legal

Pesquisador Responsável

Obs: Este termo apresenta-se em duas vias, uma destinada ao usuário ou seu representante legal e a outra ao Pesquisador.

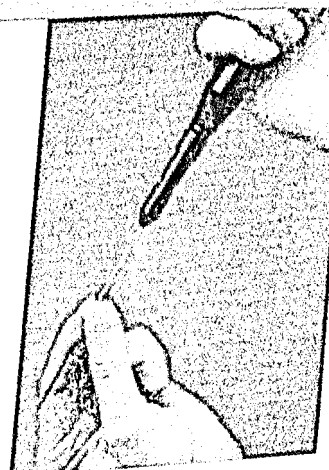
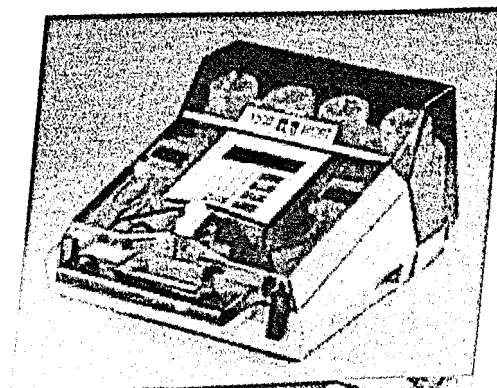
Professor Pós-Doutor Foued Salmen Espindola
Universidade Federal de Uberlândia, Instituto de Genética e Bioquímica
Laboratório de Bioquímica e Biologia Molecular.
Endereço: Rua Acre - Bloco 2E39A - Campus Umuarama
CEP- 38400-982-Uberlândia- MG.
Tel: (34) 3218 2477

Orientanda: Juliana Hubaide Carneiro
Tel: (34) 3255 2188

Comitê de Ética em Pesquisa - UFU
Tel: (34) 3239 4131

**ANEXO VI: FOTOS DO LACTÍMETRO UTILIZADO NA PESQUISA E PIPETA
UTILIZADA PARA MENSURAÇÃO DO VOLUME SANGUÍNEO**

A: Lactímetro



B: Pipeta