

EVERSON ARAÚJO NUNES

**EFEITO DA INGESTÃO DE FRUTOSE E GLICOSE SOBRE A RESSÍNTESE DE
GLICOGÊNIO HEPÁTICO E MUSCULAR APÓS EXERCÍCIO EM RATOS
SUBMETIDOS A TREINAMENTO**

Monografia apresentada para obtenção de
título de Bacharel em Ciências Biológicas,
Setor de Ciências Biológicas, Universidade
Federal do Paraná.

Orientador: Dr. Luiz Cláudio Fernandes

CURITIBA
2002

AGRADECIMENTOS

Ao professor Luiz Cláudio pela orientação e apoio durante o desenvolvimento do trabalho.

Aos meus pais, José e Eliane, por todo o tipo de apoio que sempre me deram.

Ao meu irmão Jaelson pela ajuda e descontração durante treinamento dos ratos.

A Bibi por tirar as fotos presentes neste trabalho, pela paciência, incentivo, carinho e companheirismo.

A todos os meus familiares pelo incentivo.

A Irlena pelas dicas sobre a utilização do sistema de natação e tudo mais.

Ao pessoal do laboratório Claudia, Dalva, Dani, Fábio, João, Júlia, Loli, Maressa, Mariana, Natália, Ricardo, Rodrigo e Sandro pela ajuda nos experimentos, pelo ensino de técnicas que utilizei no trabalho e pelos momentos de descontração.

A todos os amigos e colegas, pela amizade e convivência ao longo do curso.

A todos os professores que contribuíram de alguma forma para minha formação.

Aos funcionários do biotério pelo auxílio no cuidado com os ratos.

SUMÁRIO

	Pág.
RESUMO.....	iv
INTRODUÇÃO.....	1
OBJETIVOS.....	5
MATERIAIS E MÉTODOS.....	6
RESULTADOS.....	12
DISCUSSÃO.....	19
CONCLUSÕES.....	27
REFERÊNCIAS.....	28

RESUMO

A restauração dos estoques de glicogênio, hepático e muscular, é uma parte importante do processo de recuperação após o exercício. Um dos fatores relacionados a ressíntese ótima do glicogênio hepático ou muscular, é o tipo de carboidrato ingerido. A frutose é relacionada a maiores reposições do glicogênio hepático enquanto a glicose pode ser mais eficiente na reposição do glicogênio muscular. Este trabalho investigou a repercussão que o tipo de carboidrato (glicose ou frutose) ingerido após o exercício de natação, de intensidade moderada a elevada (65-70% VO₂máx.), teria sobre a ressíntese do glicogênio hepático e muscular em indivíduos treinados por 8 semanas. Para isso, determinou-se o conteúdo de glicogênio hepático e muscular, glicemia, triacilgliceridemia e lipídeos totais no soro dos animais dos grupos Sedentário (S), Exercício descansado (ED), Exercício água (EA), Exercício glicose (EG) e Exercício frutose (EF). Os resultados mostram que os animais que receberam uma solução de frutose (EF), após o exercício, apresentaram maior conteúdo de glicogênio hepático quando comparado ao grupo que recebeu glicose (EG). No entanto o grupo que recebeu glicose (EG) apresentou um maior conteúdo de glicogênio muscular quando comparado ao grupo que recebeu frutose (EF). Os grupos EA e EF apresentaram lipidemias significativamente maiores que a do grupo EG, enquanto que a triacilgliceridemia do grupo EA foi menor quando comparada a dos grupos S, ED e EF. Assim demonstramos que o tipo de carboidrato ingerido após a atividade física influencia a reposição do glicogênio hepático e muscular, sendo a glicose um substrato mais indicado para a ressíntese de glicogênio muscular e a frutose mais indicada para a recuperação do glicogênio hepático.

INTRODUÇÃO

O exercício representa um sério desafio às vias bioenergéticas do indivíduo em atividade. Por exemplo, o gasto energético total do organismo, no exercício, pode ser de quinze a vinte e cinco vezes o gasto energético em repouso (POWERS; HOWLEY, 2000). Durante a realização de exercícios um dos substratos degradados e utilizados é o glicogênio muscular (HULTMAN, 1967). Glicogênio é a forma polimérica de armazenamento da glicose em animais e em alguns microorganismos (NELSON; COX, 2000).

Glicose e glicogênio são carboidratos, compostos por átomos de carbono, hidrogênio e oxigênio. Os carboidratos armazenados fornecem ao corpo uma forma de energia rapidamente disponível, pois um grama de carboidrato fornece aproximadamente 4 kcal de energia. Os carboidratos existem sob três formas: monossacarídeos, dissacarídeos e polissacarídeos. Monossacarídeos são açúcares simples como a frutose e a glicose. A glicose pode ser encontrada nos alimentos ou formada no trato digestivo como resultado da clivagem de carboidratos mais complexos. A frutose encontra-se nas frutas ou no mel e é considerada o carboidrato simples mais doce (POWERS; HOWLEY, 2000). Os dissacarídeos são compostos formados por dois monossacarídeos, como, por exemplo, a sacarose que é composta de glicose e frutose. Os polissacarídeos contêm mais de duas unidades de monossacarídeos. Os polissacarídeos comuns incluem o amido e o glicogênio, ambos compostos totalmente por unidades de glicose (WILMORE; COSTILL, 2001).

As moléculas de glicogênio geralmente são grandes e podem consistir de centenas de milhares de moléculas de glicose (POWERS; HOWLEY, 2000). Em condições de repouso, após uma refeição, os carboidratos ingeridos são captados pelos músculos e pelo fígado e em seguida convertidos em glicogênio (GUYTON; HALL, 1997). O glicogênio armazenado no fígado também pode ser degradado até glicose, mas esta, na maioria das vezes, é liberada no sangue e levada aos tecidos ativos, onde será metabolizada (WILMORE; COSTILL, 2001).

A contribuição relativa do glicogênio muscular e da glicose sanguínea ao metabolismo energético durante o exercício varia em função de sua intensidade e duração. A glicose sanguínea desempenha papel maior durante o exercício de baixa intensidade, enquanto o

glicogênio muscular é a principal fonte de carboidratos no exercício de alta intensidade (WILMORE; COSTILL, 2001).

Durante o exercício sub-máximo (65-75% do consumo máximo de O_2 , VO_2 máx.) prolongado, existe diminuição da utilização do glicogênio muscular e aumento da utilização da glicose sanguínea, provinda do glicogênio hepático, com a progressão do tempo (POWERS; HOWLEY, 2000).

Muitos estudos demonstraram que o glicogênio hepático e muscular são importantes na manutenção da performance durante o exercício (BERGSTROM; HULTMAN, 1967; PERNOW; SALTIN, 1971). WILMORE; COSTILL (2001) relataram que quando indivíduos se exercitam até a exaustão a 75% do VO_2 máx, os tempos de exercício foram proporcionais à quantidade de glicogênio muscular presente antes do teste.

Existe um volume crescente de evidências que sugerem que o exercício contínuo de alta intensidade é um meio excepcional de aumentar o VO_2 máx dos atletas. Embora a intensidade de exercício, que promove o maior aumento do VO_2 máx, possa variar para cada atleta, acredita-se que as intensidades entre 80 e 90% do VO_2 máx sejam as ideais (DUDLEY; ABRAHAM; TERJUNG, 1982; DAVIES; KNIBBS, 1971). Segundo WILMORE; COSTILL (2001) os carboidratos são fonte importante de energia durante o exercício de alta intensidade, e atletas que treinam intensamente ou competem em dias seguidos, que não consomem carboidratos adequadamente, apresentam diminuição diária do glicogênio muscular, acarretando em diminuição da performance.

O conteúdo de carboidrato do músculo esquelético é muito resistente a alterações bruscas nos indivíduos sedentários (MAUGHAN; GLEESON; GREENHAFF, 2000). Contudo, foi demonstrado que em exercícios com intensidades fracas para moderadas as fibras musculares do tipo I são as primeiras a esvaziar seu conteúdo de glicogênio, seguidas das fibras do tipo IIa e IIb quando o exercício se prolonga por mais tempo. Durante exercício de intensidade elevada a maioria das fibras são solicitadas, e todas apresentam redução significativa dos níveis de glicogênio precocemente (VOLLESTAD; BLOM, 1985; GREEN, 1987). As reservas de glicogênio hepático diminuem rapidamente quando uma pessoa é privada de carboidratos por apenas 24 horas, mesmo em repouso. Com somente 1 hora de exercício, acima de 75% do VO_2 máx, o glicogênio hepático pode diminuir a 45% do seu valor inicial (POWERS; HOWLEY, 2000; WILMORE; COSTILL 2001).

Devidos às evidências que apontam a importância do glicogênio sobre a performance e o modo de utilização deste substrato, existe uma grande preocupação em se manter os estoques de glicogênio muscular e hepático sempre repletos. Outra preocupação existente é a reposição rápida dos estoques após o exercício (POWERS; HOWLEY, 2000). A restauração dos estoques de glicogênio hepático e muscular é uma parte importante do processo de recuperação após o exercício intenso. As taxas mais elevadas de síntese de glicogênio são obtidas quando consumida uma dieta rica em carboidratos imediatamente após o término de um exercício. O retardo da ingestão de carboidratos, mesmo por duas horas, pode impedir que ocorram taxas máximas de ressíntese. A ingestão deve ser feita logo após o exercício e repetida a cada duas horas por seis horas. Quando uma quantidade adequada de carboidratos encontra-se disponível, a restauração das reservas de glicogênio muscular se dá em cerca de 24 horas, após um exercício moderado prolongado. A restrição da ingestão de carboidratos impedirá a restauração ótima das reservas tissulares de glicogênio (MAUGHAN; GLEESON; GREENHAFF, 2000; POWERS; HOWLEY, 2000; WOLINSKY; HICKSON, 2002).

Além do tempo de ingestão, outro fator que se relaciona à síntese de glicogênio, hepático ou muscular, é o tipo de carboidrato ingerido (CRAIG, 1993). Segundo POWERS; HOWLEY (2000), a glicose ou os polímeros da glicose são melhores que a frutose para a síntese de glicogênio muscular, mas certa quantidade de frutose deve ser ingerida, uma vez que ela pode ser melhor para a recuperação do glicogênio hepático.

MAUGHAN; GLEESON; GREENHAFF (2000) defendem que a ingestão de frutose, após o exercício, favorece a ressíntese de glicogênio hepático e não permite uma reposição ideal do glicogênio muscular, enquanto a ingestão de glicose parece favorecer a reposição das reservas musculares de glicogênio. Também segundo MAUGHAN; GLEESON; GREENHAFF (2000), a sacarose permite a reposição de ambas as reservas de glicogênio. CONLEE; LAWLER; ROSS (1987) advogam que a frutose não é um bom recurso nutricional para uma rápida reposição do glicogênio muscular após o exercício, mas tanto a glicose quanto a frutose promovem rápida acumulação do glicogênio hepático. BLOM et al. (1987) relatam que a ingestão de glicose ou sacarose é significativamente mais efetiva que a frutose na promoção da síntese de glicogênio muscular pós-exercício.

MURAKAMI et al. (1997) sugerem que a frutose provinda da dieta e o treino de *endurance* agem sinergicamente no aumento do glicogênio hepático e muscular em ratos. BERGH et al. (1996) demonstraram em seu estudo, utilizando ressonância magnética nuclear, que a glicose provocou ressíntese mais rápida do glicogênio muscular quando comparado com a frutose, em humanos durante as oito horas após o exercício de depleção de glicogênio.

Nosso trabalho foi direcionado a observar a repercussão que o tipo de carboidrato (glicose ou frutose) ingerido após o exercício, de intensidade moderada a elevada (65-70% VO_2 máx.), teria sobre a ressíntese do glicogênio hepático e muscular. Com isso, visamos entender e otimizar os processos de recuperação após esse tipo de atividade, contribuindo assim com a melhora das condições de treinamento e performance durante períodos de competição.

OBJETIVOS

Objetivo Geral

Investigar o efeito da ingestão de frutose e glicose, isoladamente, sobre a ressíntese de glicogênio hepático e muscular após exercício em ratos submetidos a treinamento.

Objetivos Específicos

- Determinar o conteúdo de glicogênio muscular e hepático duas horas após o exercício seguido da ingestão de carboidrato (glicose ou frutose).
- Determinar qual dos dois carboidratos administrados propicia a maior ressíntese de glicogênio hepático.
- Determinar qual dos dois carboidratos administrados propicia a maior ressíntese de glicogênio muscular.

MATERIAIS E MÉTODOS

Animais

Foram utilizados vinte e quatro ratos machos albinos adultos (70 dias) da linhagem Wistar, obtidos no Biotério do Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná, UFPR – Campus do Centro Politécnico, Curitiba, PR. Durante o período de treinamento os animais receberam ração (Nuvital-Pr) e água a vontade, mantidos em ciclo claro/escuro de 12 horas/12 horas, com ciclo de luz iniciando às 6:00 horas.

Antes de iniciar tratamento experimental, os animais passaram por um período de adaptação ao treinamento em exercício aquático, de modo a suportar o tempo de exercício intenso de 25 a 50 minutos, visando a obtenção de adaptações bioquímicas e fisiológicas ao treinamento intenso (POWERS; HOWLEY, 2000; KATCH; MCARDLE, 1996; WILMORE; COSTILL, 2001). Para conseguir a intensidade do treinamento desejada, foram utilizados sobrepesos de chumbo preso ao tronco do indivíduo através de elásticos (KOKUBUN, 1990).

Procedimento de Natação

Foi utilizado um sistema de natação composto de tanques circulares com 50 cm de altura e 25 cm de diâmetro, interligados por uma central de bombeamento e aquecimento de água. Este sistema é uma modificação do sistema proposto por VIEIRA et al.(1988). A água foi mantida a uma profundidade de 30cm e recirculada através do sistema central ajustado para manter a temperatura a 32°C (FIGURA 1).

Durante o período de treinamento e no tratamento experimental, os animais foram submetidos à natação com um sobrepeso de chumbo. Este procedimento foi necessário, pois, segundo DAWSON; HORVATH (1970) e KOKUBUN (1990), sem o sobrepeso os animais poderiam se exercitar por mais de cinco horas e não fariam a intensidade desejada (FIGURA 2). O sobrepeso representou 8% do peso corporal, que, segundo KOKUBUN (1990), corresponde à intensidade sub-máxima. Os animais seriam considerados exaustos se permanecessem no fundo dos tanques por mais de 30 segundos. O período de treinamento necessário para que ocorram as adaptações pode variar de seis a oito semanas (KATCH; MCARDLE, 1996; ROMBALDI, 1996; MCARDLE; KATCH; KATCH, 1998). Os

animais se exercitaram três vezes por semana (segunda, quarta e sexta-feira), por um período que variou de 25 a 50 minutos (FIGURA 3). Durante a primeira semana, os animais foram adaptados progressivamente a sobrecarga pretendida, de modo a suportarem a sobrecarga de 8% do peso corporal no período de 25 a 50 minutos ao final da semana. Ao final de cada sessão, o animal recebeu um volume de água (3 mL), administrado com sonda orogástrica, com o intuito de mimetizar a solução carboidratada que foi administrada apenas no último dia do experimento. Depois de secos, os animais eram recolocados na caixa, de seu respectivo grupo, com livre acesso à ração e água.

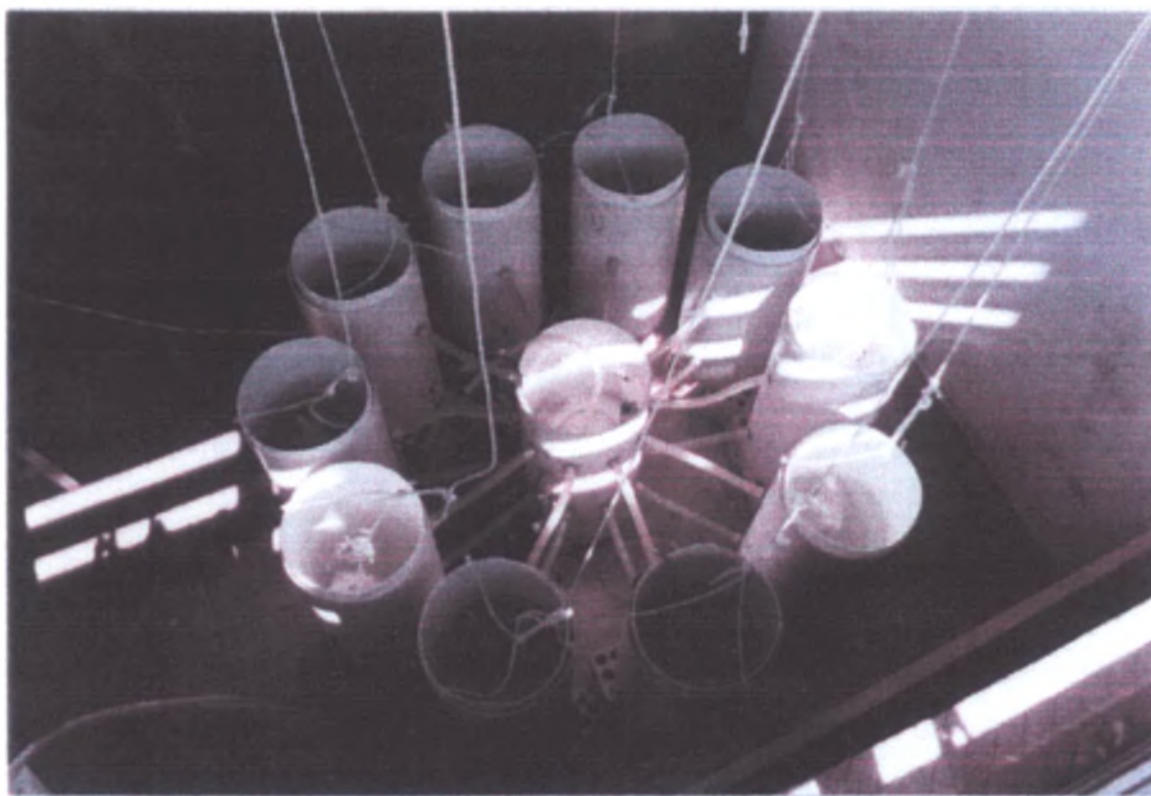


FIGURA 1 - Sistema de natação composto por dez piscinas de PVC interligadas por um tubo central onde a água era aquecida e mantida a 32°C.



FIGURA 2 – Detalhe de um indivíduo com o sobrepeso de chumbo acoplado ao tórax.

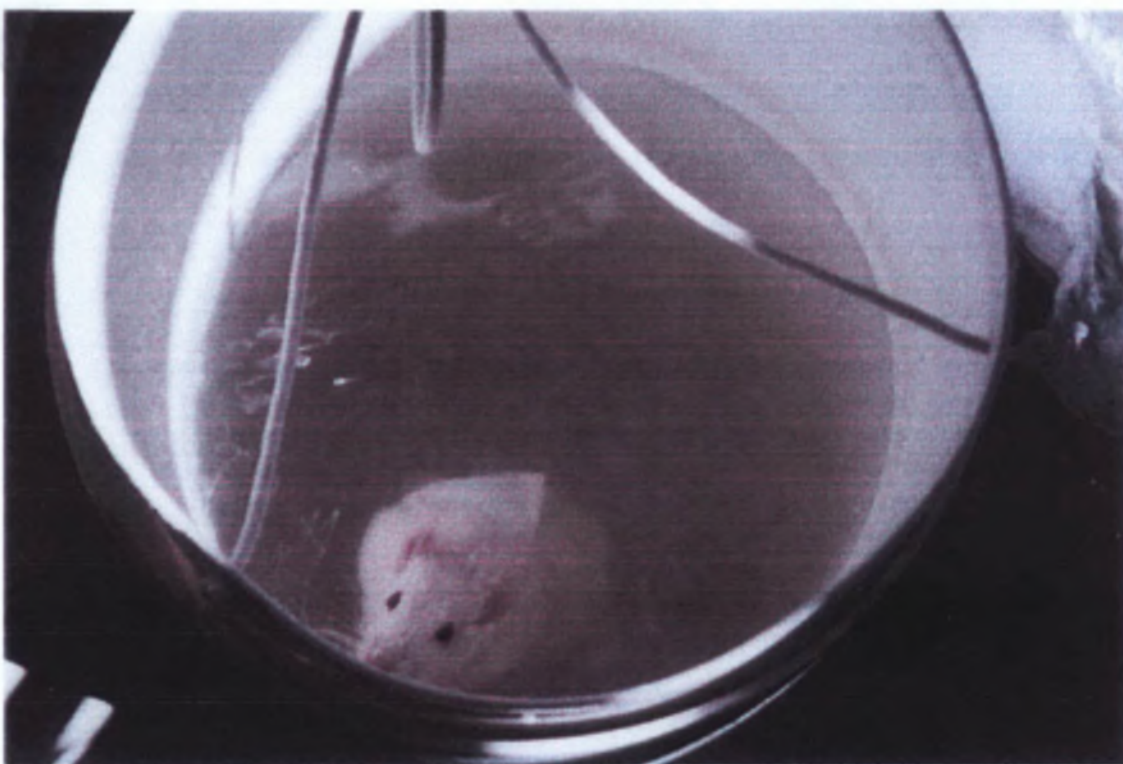


FIGURA 3 – Detalhe do indivíduo praticando exercício de natação.

Tratamento experimental

Os vinte e quatro animais foram divididos em cinco grupos, sedentário (S), exercício glicose (EG), exercício frutose (EF), exercício água (EA) e exercício descansado (ED). O grupo ED possuía quatro indivíduos e o restante dos grupos possuíam cinco. Os animais foram treinados durante nove semanas, sendo a primeira semana um período de adaptação. Ao final das nove semanas, no dia do experimento, apenas os grupos EG, EF, EA passaram pela sessão de treinamento. Ao final da sessão os grupos EG e EF ingeriram, respectivamente, soluções de glicose ou frutose 8% (p/v), enquanto que os grupos EA, ED e S ingeriram apenas água. A administração foi repetida após uma hora. Passadas duas horas desde a primeira administração, todos os animais foram sacrificados para a retirada das amostras de sangue e tecido.

Soluções carboidratadas

No dia do sacrifício, após o último treinamento, foram administradas diferentes soluções carboidratadas a dois grupos de animais. Os carboidratos utilizados foram D-frutose e D-glicose da marca Synth, Labsynth Produtos para Laboratórios Ltda. As soluções foram preparadas a 8% (p/V), uma contendo frutose e outra glicose. A dose de carboidrato ingerida foi de 0,7 g/kg/h. O volume de solução ingerida foi calculado de acordo com o peso de cada animal. A administração foi feita por meio de sonda orogástrica.

Obtenção do sangue e amostras de tecidos

Os animais foram anestesiados (pentobarbital – 0,05g/Kg peso corporal) e sacrificados por decaptação em guilhotina, recolhendo-se o sangue em tubos de ensaio sem anticoagulante. Do sangue foi recolhido o soro, após centrifugação a 1500 rpm por 5 minutos, para mensuração da glicemia, lipídeos totais e triacilgliceróis.

Retirou-se, por laparotomia mediana, uma porção do fígado. A pele da pata posterior foi removida e foram retirados uma amostra da região medial superficial do músculo gastrocnêmio (porção branca – fibras musculares de contração rápida glicolíticas) e o músculo sóleo (fibras musculares lentas oxidativas). As amostras de músculos (125 mg do sóleo, 125 mg do gastrocnêmio) e fígado (250 mg) foram imediatamente, depois de pesados, colocados em tubos com KHO a 30% e imersos em banho fervente por 60 min.

Determinação da concentração de glicogênio hepático e muscular

Para a determinação das concentrações de glicogênio utilizamos o método da antrona (SJORGREEN et al., 1938). Amostras de tecido foram pesadas, 125 mg de músculo e 250 mg de fígado, e imediatamente digeridas durante 60 min em banho, a 100°C, em 1 mL de solução KOH 30%. Após o banho os tubos foram agitados e acrescentados de 0,1 mL de solução NaSO₄ saturada e agitados novamente. Adicionamos então 3,5 mL de álcool absoluto em cada tudo e levamos ao banho fervente até a ebulição do álcool. Os tubos foram centrifugados a 2000 rpm a 20°C por 20 min. Depois de centrifugados sobrenadante foi descartado, e o corpo de fundo foi diluído em 1 mL de água quente e agitado fortemente. Repetimos, então, os passos a partir da adição de álcool. Depois de diluir o corpo de fundo em 1 mL de água quente e agitar fortemente, foi feita uma diluição para 12,5 mL (HASSID; ABRAHAMS, 1957). Para a mensuração da absorbância colocamos 25 µL de amostra em novos tubos com 0,475 mL de água. Como padrão utilizamos soluções de glicose. Após todos os tubos das amostras e padrões prontos adicionamos 1 mL de solução de antrona em ácido sulfúrico (2 mg/mL) a cada tubo, agitamos intensamente e levamos ao banho a 100°C por 15 min, posteriormente fizemos a leitura em espectro fotômetro em comprimento de onda de 650 nm. Após ser calculada a concentração de glicogênio foi expressa em mg/100 mg de tecido.

Determinação da Glicemia

A concentração de glicose circulante foi mensurada pelo método enzimático colorimétrico. Foi utilizado o Kit Glicose E enzimática da Labtest, segundo TRINDER (1969). A intensidade de cor emitida, pelos produtos das reações, é diretamente proporcional à quantidade de glicose na amostra de soro. A leitura de absorbância foi feita em espectrofotômetro a 505 nm, após ser calculada a concentração foi expressa em mg/dL.

Determinação dos Triacilgliceróis no soro

Os triacilgliceróis no soro foram determinados pelo método enzimático colorimétrico conforme o Kit triglicerídeos enzimático da Wiener lab. Os triacilgliceróis são desdobrados enzimaticamente por uma lipase específica, produzindo glicerol e ácidos graxos. O glicerol é

oxidado com ácido periódico e formaldeído que se quantifica colorimetricamente a 410nm com 3,5-diacetil-1,4dihidrolitidina. A concentração foi expressa em mg/dL.

Determinação dos lipídeos totais no soro

Os lipídeos totais no soro foram determinados pelo método colorimétrico, sulfofosvanilina, utilizando-se o Kit Lipídeos totais colorimétrico da Celm Cia. Os lipídeos séricos, incluindo os ácidos graxos insaturados livres, esterificados, o colesterol livre e seus ésteres reagem com a vanilina em meio fosfórico, primeiramente reagindo com o ácido sulfúrico aquecido. O cromógeno rosa violáceo assim obtido é lido espectro fotometricamente em 530nm e é proporcional à concentração dos lipídeos totais da amostra e foi expressa em mg/dL.

Análise estatística

Os dados estão apresentados como médias \pm E.P.M. e foram submetidos a ANOVA com a aplicação do pós - teste t (*teste de student*) sendo que o nível de significância foi para $p < 0,05$.

RESULTADOS

Todos os grupos tiveram ganho de peso durante as nove semanas de treinamento. Não foi observada diferença significativa, quanto ao ganho de peso, quando se compara grupo sedentário e exercitados, assim como entre os exercitados. Os valores da evolução do peso corpóreo (g) dos cinco grupos estão apresentados na figura 4.

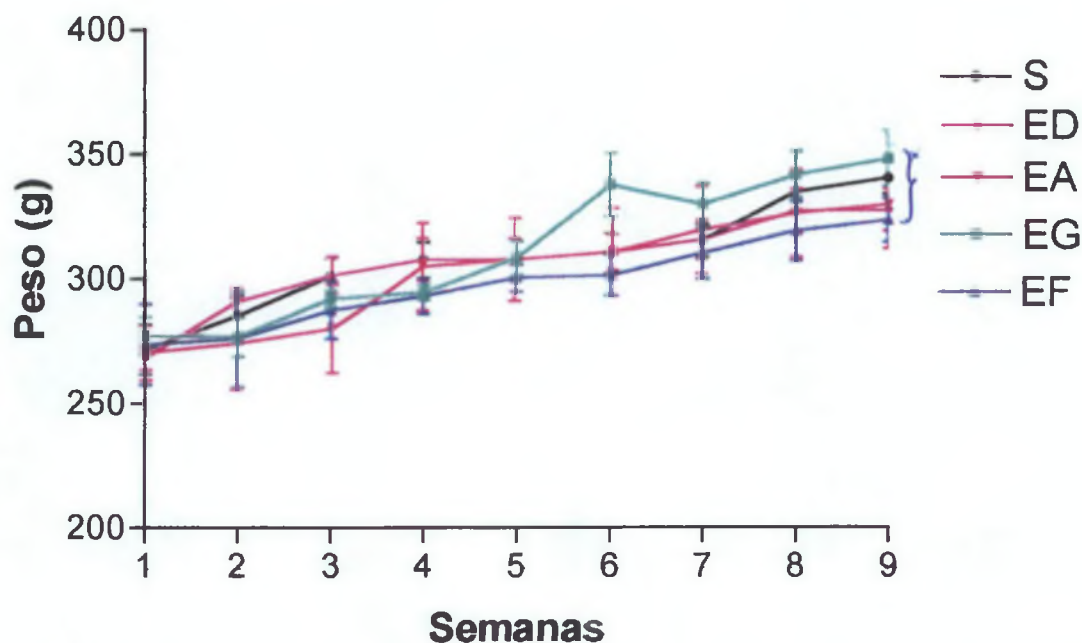


FIGURA 4 – Evolução do peso corpóreo dos grupos Sedentário (S), Exercício descansado (ED), Exercício água (EA), Exercício glicose (EG) e Exercício frutose (EF) durante o período de treinamento de 9 semanas. Os valores estão apresentados como média \pm E.P.M.

Na figura 5 estão representadas o conteúdo de glicogênio hepático (mg/100mg de tecido) nos grupos Sedentário (S), Exercício descansado (ED), Exercício água (EA), Exercício glicose (EG) e Exercício frutose (EF), duas horas após os grupos Exercício água (EA), Exercício glicose (EG) e Exercício frutose (EF) terminarem a sessão de exercício e receberem duas doses, uma por hora, de suas respectivas soluções carboidratadas ou água. O conteúdo de glicogênio hepático nos grupos Exercício descansado (ED), Exercício glicose (EG) e Exercício frutose (EF) foi significativamente maior ($p < 0,05$) quando comparada com á dos grupos Sedentário (S) e Exercício água (EA). No grupo que recebeu frutose (EF) este foi

significativamente maior ($p < 0,05$) que o encontrado nos grupos Exercício descansado (ED) e Exercício glicose (EG).

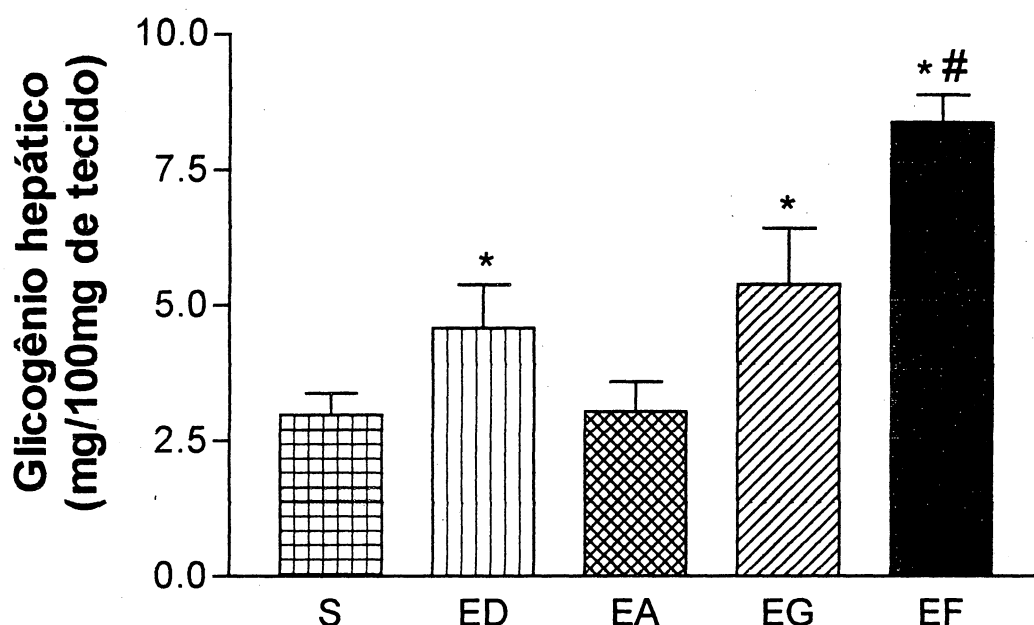


FIGURA 5 – Conteúdo de glicogênio hepático (mg/100 mg de tecido) nos grupos Sedentário (S), Exercício descansado (ED), Exercício água (EA), Exercício glicose (EG) e Exercício frutose (EF) duas horas após os grupos EA, EG e EF terminarem a sessão de exercício e receberem duas doses, uma por hora, de suas respectivas soluções carboidratadas ou água. Os valores estão apresentados como média \pm E.P.M. * Diferença significativa ($p < 0,05$) quando comparada com S e EA. # Diferença significativa em relação à ED e EG.

O conteúdo de glicogênio no músculo gastrocnêmio (mg/100mg de tecido) nos grupos Sedentário (S), Exercício descansado (ED), Exercício água (EA), Exercício glicose (EG) e Exercício frutose (EF) duas horas após os grupos Exercício água (EA), Exercício glicose (EG) e Exercício frutose (EF) terminarem a sessão de exercício e receberem duas doses, uma por hora, de suas respectivas soluções carboidratadas ou água está representada na figura 6. O conteúdo de glicogênio no músculo gastrocnêmio dos grupos Exercício descansado (ED), Exercício água (EA) e Exercício glicose (EG) foi maior que o encontrado no grupo Sedentário (S). Entre Sedentário (S) e Exercício frutose (EF) não houve diferença significativa. Exercício glicose (EG) teve o conteúdo de glicogênio significativamente maior

quando comparado ao Exercício frutose (EF), mas não diferente quando comparado ao Exercício descansado (ED) e Exercício água (EA), apesar da tendência.

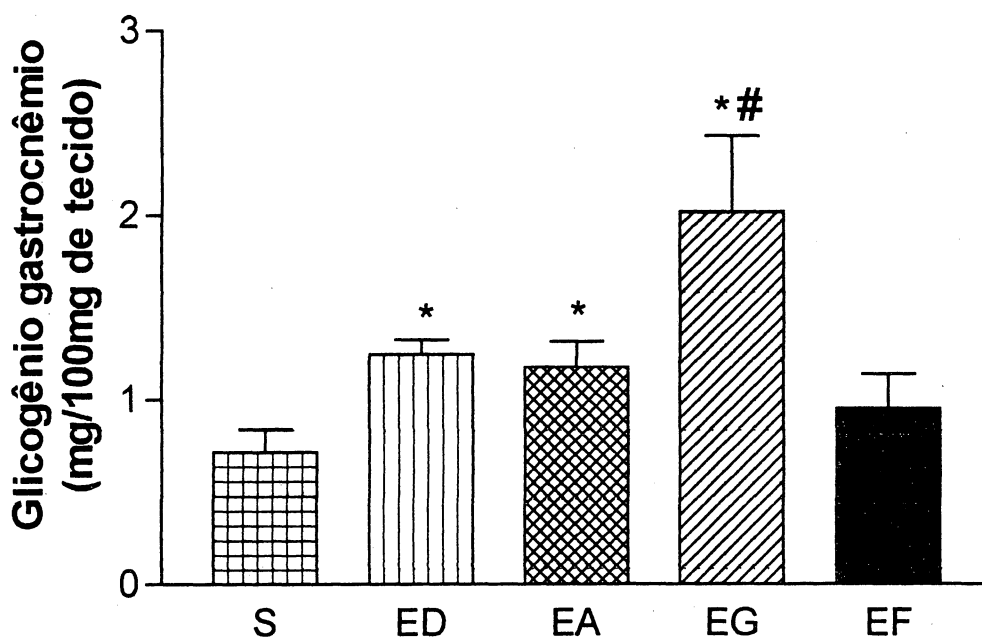


FIGURA 6 – Conteúdo de glicogênio no músculo gastrocnêmio (mg/100 mg de tecido) dos grupos Sedentário (S), Exercício descansado (ED), Exercício água (EA), Exercício glicose (EG) e Exercício frutose (EF) duas horas após os grupos EA, EG e EF terminarem a sessão de exercício e receberem duas doses, uma por hora, de suas respectivas soluções carboidratadas ou água. Os valores estão apresentados como média \pm E.P.M. * Diferença significativa ($p < 0,05$) quando comparada com S. # Diferença significativa quando comparada ao EF.

Na figura 7 está apresentado o conteúdo de glicogênio no músculo sóleo (mg/100mg de tecido) dos grupos Sedentário (S), Exercício descansado (ED), Exercício água (EA), Exercício glicose (EG) e Exercício frutose (EF) duas horas após os grupos Exercício água (EA), Exercício glicose (EG) e Exercício frutose (EF) terminarem a sessão de exercício e receberem duas doses, uma por hora, de suas respectivas soluções carboidratadas ou água. Os grupos Exercício descansado (ED) e o que recebeu glicose (EG) tiveram um conteúdo de glicogênio significativamente maior quando comparado ao dos grupos Sedentário (S) e Exercício frutose (EF).

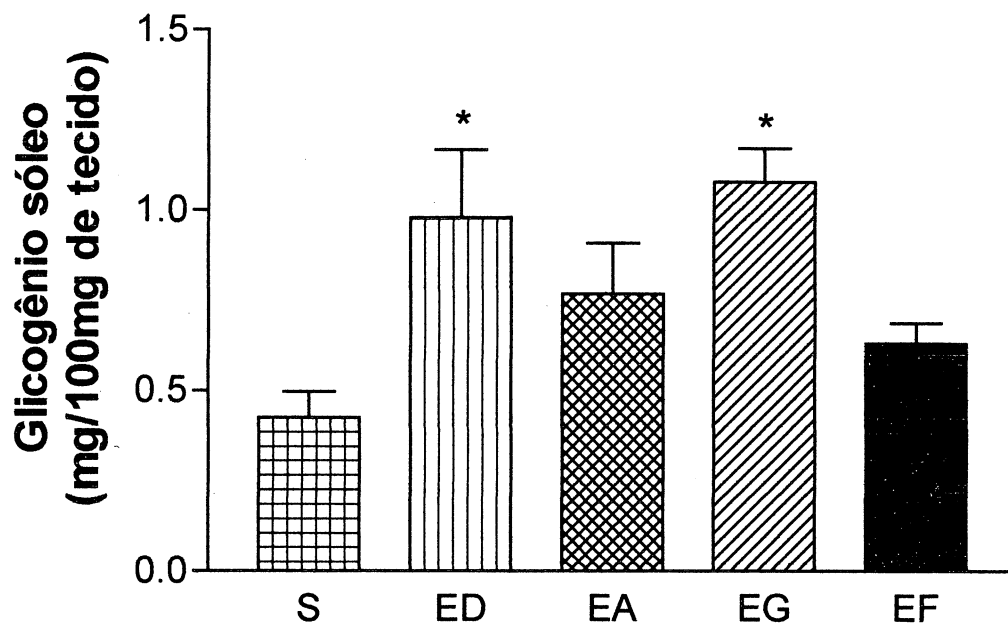


FIGURA 7 – Conteúdo de glicogênio no músculo sóleo (mg/100 mg de tecido) dos grupos Sedentário (S), Exercício descansado (ED), Exercício água (EA), Exercício glicose (EG) e Exercício frutose (EF) duas horas após os grupos EA, EG e EF terminarem a sessão de exercício e receberem duas doses, uma por hora, de suas respectivas soluções carboidratadas ou água. Os valores estão apresentados como média \pm E.P.M. * Diferença significativa ($p < 0,05$) quando comparado com S e EF.

Na figura 8 está representada a glicemia (mg/dL) dos grupos Sedentário (S), Exercício descansado (ED), Exercício água (EA), Exercício glicose (EG) e Exercício frutose (EF) duas horas após os grupos EA, EG e EF terminarem a sessão de exercício e receberem duas doses, uma por hora, de suas respectivas soluções carboidratadas ou água. O grupo que recebeu frutose (EF) apresentou uma glicemia significativamente menor quando comparada à dos grupos que ingeriram glicose (EG) e água (EA) após o treinamento e ao ED.

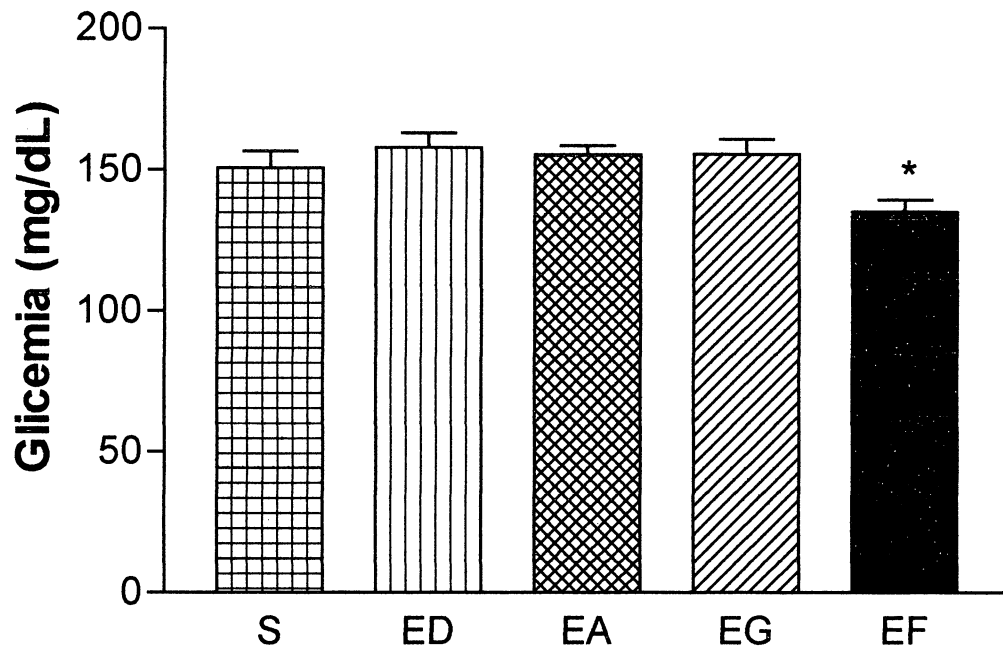


FIGURA 8– Glicemia (mg/dL) dos grupos Sedentário (S), Exercício descansado (ED), Exercício água (EA), Exercício glicose (EG) e Exercício frutose (EF) duas horas após o término da sessão de exercício e duas ingestões, uma por hora, de suas respectivas soluções carboidratadas ou água. Os valores estão apresentados como média \pm E.P.M. * $p < 0,05$ quando comparado ao ED, EA e EG.

Na figura 9 estão representadas as concentrações de lipídeos totais (mg/dL) das no soro dos grupos Sedentário (S), Exercício descansado (ED), Exercício água (EA), Exercício glicose (EG) e Exercício frutose (EF) duas horas após o término da sessão de exercício e duas ingestões, uma por hora, de suas respectivas soluções carboidratadas ou água. Os grupos Exercício água (EA) e Exercício frutose (EF) foram os que apresentaram as maiores lipidemias, resultando em diferença significativa quando comparadas à do grupo Exercício glicose (EG).

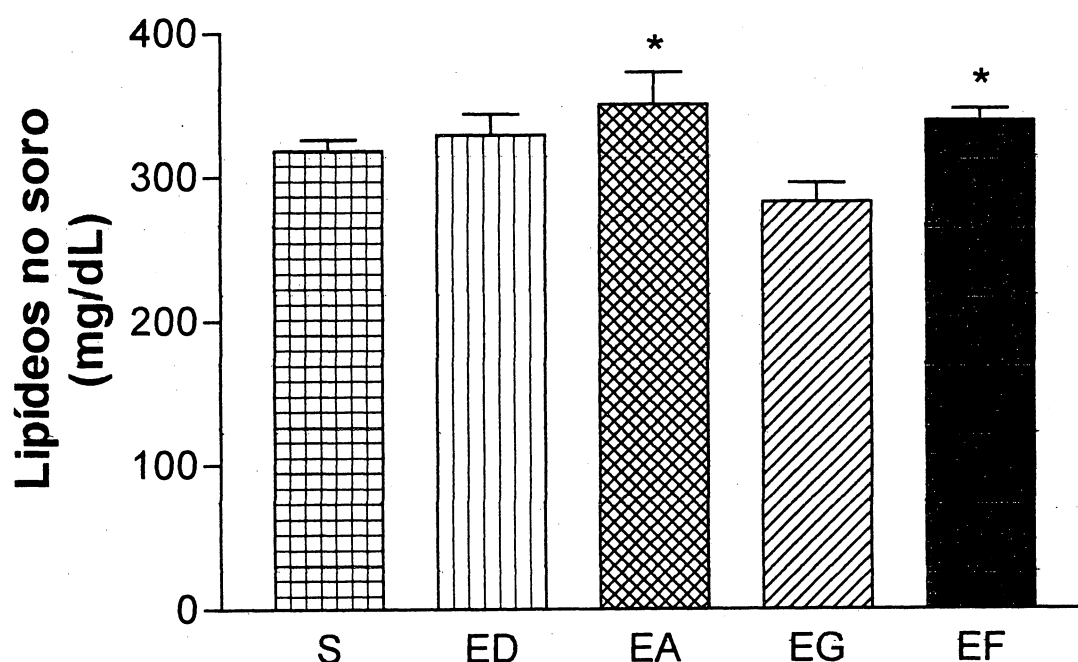


FIGURA 9 – Concentração de lipídeos totais no soro (mg/dL) dos grupos Sedentário (S), Exercício descansado (ED), Exercício água (EA), Exercício glicose (EG) e Exercício frutose (EF) duas horas após o término da sessão de exercício e duas ingestões, uma por hora, de suas respectivas soluções carboidratadas ou água. Os valores estão apresentados como média \pm E.P.M. *Diferença significativa quando comparada à do grupo Exercício glicose (EG).

Na figura 10 estão apresentadas as concentrações de triacilgliceróis no soro (mg/dL) dos grupos Sedentário (S), Exercício descansado (ED), Exercício água (EA), Exercício glicose (EG) e Exercício frutose (EF), duas horas após o término da sessão de exercício e duas ingestões, uma por hora, de suas respectivas soluções carboidratadas ou água. A trigliceridemia nos grupos Sedentário (S), Exercício descansado (ED) e Exercício frutose (EF) foi significativamente maior que a encontrada no grupo Exercício água (EA).

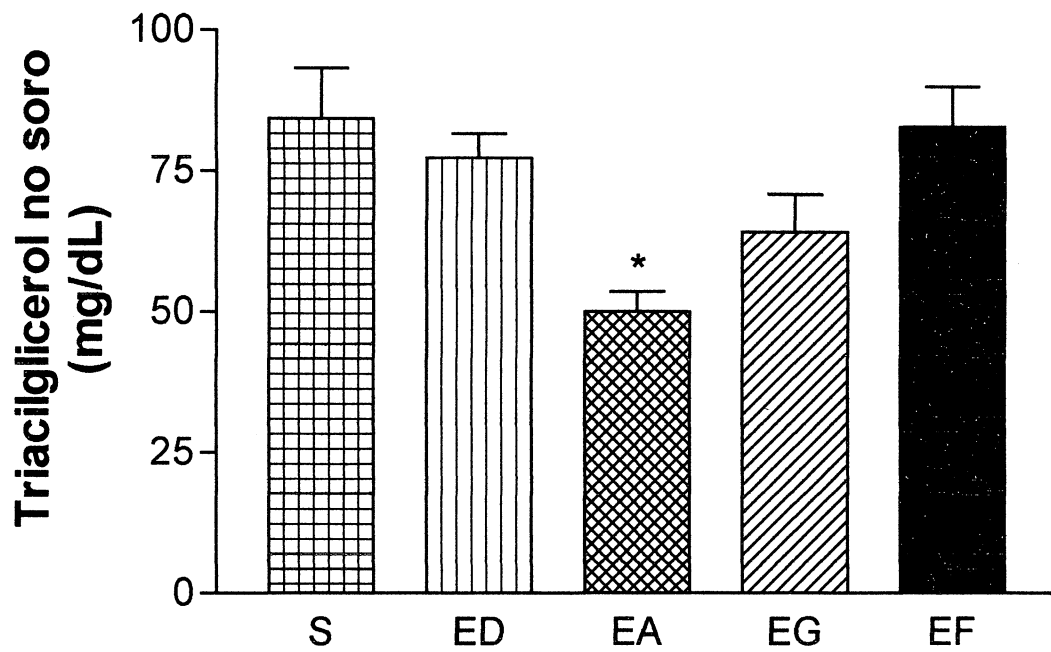


FIGURA 10 – Concentração de triacilglicerol no soro (mg/dL) dos grupos Sedentário (S), Exercício descansado (ED), Exercício água (EA), Exercício glicose (EG) e Exercício frutose (EF) duas horas após o término da sessão de exercício e duas ingestões, uma por hora, de suas respectivas soluções carboidratadas ou água. Os valores estão apresentados como média \pm E.P.M. * $p < 0,05$ quando comparado ao S, ED e EF.

DISCUSSÃO

Como ficou demonstrado nas figuras 5, 6 e 7 o treinamento de natação por 8 semanas provocou maior armazenamento de glicogênio hepático e muscular nos indivíduos treinados que estavam no estado descansado, 2 dias sem praticar exercício, quando comparado aos indivíduos sedentários. Isto está de acordo com os resultados encontrados por outros autores (NAKATANI et al., 1997; MURAKAMI et al., 1997).

O foco central do nosso trabalho foi demonstrar a distinção entre a ressíntese de glicogênio hepático e muscular quando se ingerem tipos diferentes de carboidratos. Nossa hipótese baseou-se na importância do substrato energético, glicogênio muscular e hepático, para praticantes de atividade física (JENTJENS et al., 2001; LOON et al., 2000; ARKINSTALL et al., 2001). O grau de importância fica ainda maior quando estamos nos referindo a atletas que precisam treinar várias vezes ao dia ou participar de competições que exigem, muito das reservas energéticas, em dias consecutivos (ROBERGS; ROBERTS, 2002; JENTJENS et al., 2001). Outro ponto que também foi levado em consideração é o aumento da utilização do carboidrato simples, frutose, nos alimentos e bebidas industrializadas (VUILLEUMEUMIER, 1993; PARK; YETLEY, 1993). Pelos resultados apresentados na figura 5, ficou demonstrado que os indivíduos que receberam frutose, logo após o fim da atividade física, tiveram maior ressíntese de glicogênio hepático quando comparada à dos grupos que receberam glicose e água, resultados estes que corroboram os de BERGH et al. (1996) e MURAKAMI et al. (1997), que também encontraram aumento de glicogênio hepático após ingestão de frutose. Trabalhos de NILSSON; HULTMAN (1974), YOUN; KASLOW; BERGMAN (1987), TOUNIAN; SCHNEITER; HENRY (1994), FALK et al. (2001) e DONMOYER et al. (2001) também demonstraram aumento do glicogênio hepático, utilizando protocolos com infusão de frutose em humanos e em animais. Nos dois modelos experimentais foram obtidos resultados similares, mas a aplicação prática da técnica de infusão em atletas e praticantes de atividade física é inviável, sendo apenas válida para estudos em laboratório (CRAIG, 1993).

Uma possível explicação para o maior acúmulo de glicogênio hepático após ingestão de frutose, está na influência de alguns metabólitos da frutose sobre o metabolismo da glicose e do glicogênio no fígado. A glicoquinase é uma isoforma de hexoquinase presente

no fígado. As hexoquinases catalisam a reação que transformam a glicose livre em glicose-6-fosfato, passo determinante para a entrada da glicose em muitas vias metabólicas. A hexoquinase do fígado difere da hexoquinase presente no músculo, tanto em sua velocidade de transformação de substrato quanto em sua regulação alostérica. O K_m , constante de Michaelis, expressa a concentração necessária de substrato para que a enzima atinja a metade de sua velocidade máxima. O K_m da glicoquinase é de aproximadamente 10mM enquanto que o K_m da hexoquinase muscular é 0,1 mM. Como a concentração de glicose fica em torno de 4 a 5 mM em humanos, a hexoquinase muscular normalmente trabalha em velocidades máximas, sendo inibida alostericamente pelo seu produto glicose-6-fosfato. A glicoquinase, por sua vez, necessita de concentrações séricas de glicose próximas a 10 mM para funcionar em metade dessa velocidade máxima, concentração essa que em condições normais só é atingida no estado pós-prandial, supondo que a refeição ingerida continha quantidade razoável de glicose. Esta característica da glicoquinase, junto com o eficiente transporte de glicose no fígado, mantém as concentrações de glicose dentro dos hepatócitos muito próximas daquelas encontradas no sangue, permitindo uma regulação direta da concentração de glicose no sangue. Outra propriedade importante da glicoquinase é que ela não sofre inibição alostérica pelo seu produto glicose-6-fosfato, mas sim pela frutose 6-fosfato, a qual está sempre em equilíbrio com a glicose-6-fosfato através da fosfoglicose isomerase. A frutose-6-fosfato liga-se a proteína reguladora da glicoquinase e este complexo inibe alostericamente a glicoquinase diminuindo a afinidade da enzima por seu substrato glicose (NELSON; COX, 2000). Um esquema resumido do funcionamento e controle das enzimas glicoquinase e hexoquinase está representado na figura 11.

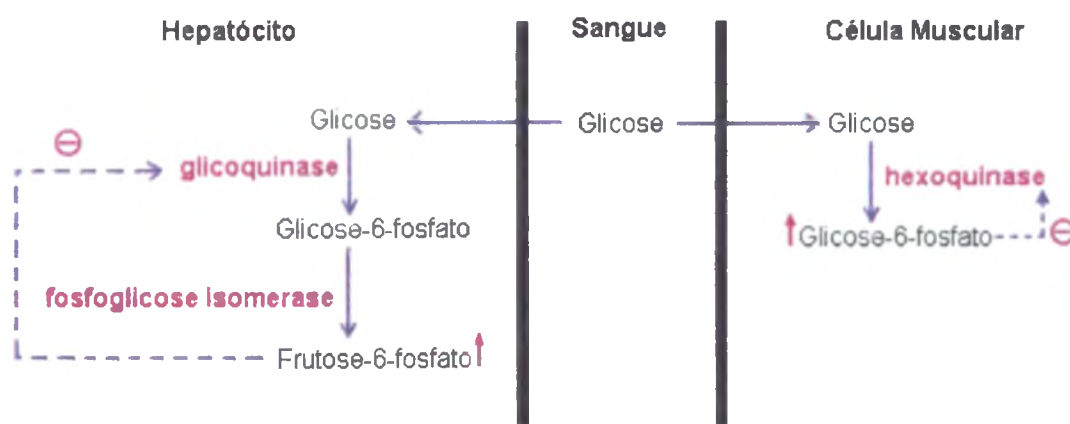


FIGURA 11 – Funcionamento e controle alostérico das enzimas glicoquinase, no hepatócito, e hexoquinase, na célula muscular.

A frutose-1-fosfato também possui a capacidade de se ligar à proteína reguladora da glicoquinase. Quando a frutose-1-fosfato se liga à proteína reguladora, a glicoquinase se dissocia e se torna ativa (NICULESCU; VEIGA-DA-CUNHA; SCHAFTINGEN, 1997). A soma da captação da glicose pelo fígado e pela musculatura poderia ser uma explicação para a glicemia diminuída dos animais que receberam frutose (FIGURA 8). A frutose-1-fosfato só é formada no fígado quando a frutose livre é encontrada na corrente sanguínea. A concentração normal de frutose no sangue é zero, quando nenhuma frutose está sendo absorvida. Concentração esta que raramente se eleva acima de 1.0 mmol/L na circulação periférica, mesmo após uma refeição contendo grandes quantidades de frutose (MAYES, 1993). A enzima que catalisa a reação que transforma a frutose em frutose-1-fosfato é denominada frutoquinase, sendo encontrada no fígado e rim (NELSON; COX, 2000). Logo após a absorção pelo epitélio intestinal e liberação na corrente sanguínea, o fígado é o primeiro órgão pelo qual a frutose passará. Esse possui um sistema enzimático bastante ativo para o metabolismo da frutose, o que propicia ao fígado extrair aproximadamente 55-70% da frutose circulante, restando apenas 30-45% para outros tecidos como o muscular, renal e adiposo (TOPPING; MAYES, 1971). No músculo a hexoquinase, também possui a capacidade de fosforilar a frutose, mas esta fosforilação se dá no carbono 6 transformando-a em frutose-6-fosfato (NELSON; COX, 2000). Estudos demonstraram que a adição de pequenas quantidades de frutose em fígado de rato perfundido provocou imediata, mas temporária, diminuição dos níveis hepáticos de ATP e Pi. Fato esse atribuído a formação de frutose-1-fosfato pela frutoquinase, que fosforila rapidamente a frutose utilizando uma molécula de ATP (BURNS et al., 2000; MAYES, 1993). Outro ponto importante é a influência a frutose-1-fosfato sobre as enzimas glicogênio sintase e glicogênio fosforilase, que respectivamente são as enzimas responsáveis pela síntese e degradação das moléculas de glicogênio (MAUGHAN; GLEESON; GREENHAFF, 2000). Tanto a glicogênio sintase como a glicogênio fosforilase, possuem um controle bastante complexo, onde estão envolvidos o sistema endócrino, sistema nervoso, concentrações de íons, ATP e outros componentes das vias metabólicas hepáticas (BOLLEN; KEPPENS; STALMANS, 1998). O mecanismo ainda não é totalmente compreendido, mas sabe-se que a frutose-1-fosfato possui a capacidade de estimular a glicogênio sintase e inibir a glicogênio fosforilase (CIUDAD; CARABAZA;

GUINAVART, 1988). A figura 12 apresenta o resumo da influência da frutose-1-fosfato sobre algumas enzimas do metabolismo da glicose e glicogênio no hepatócito.

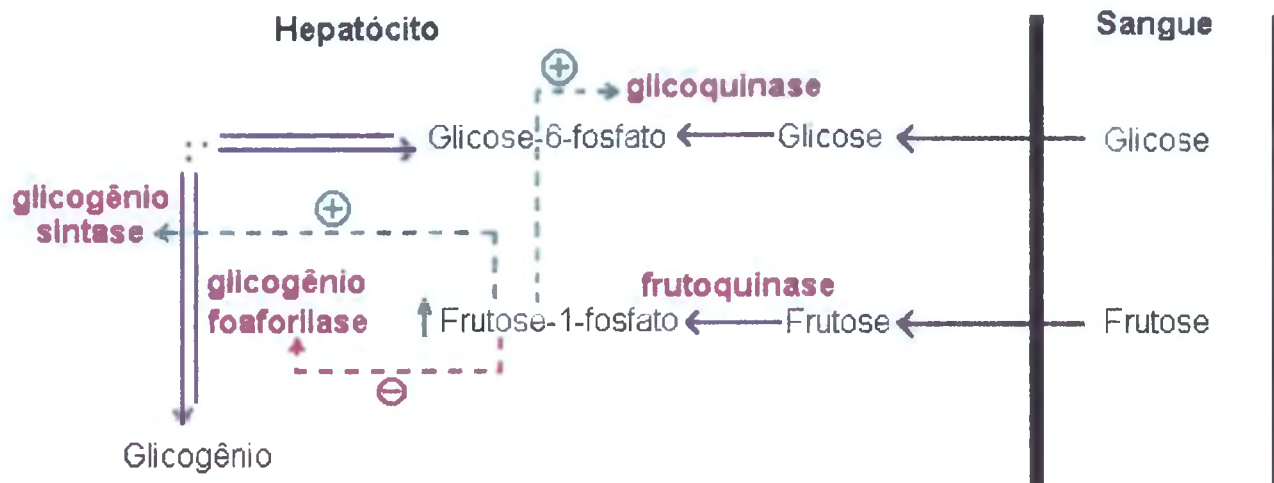


FIGURA 12 – Influência da frutose-1-fosfato sobre o funcionamento das enzimas: glicocquinase, glicogênio sintase e glicogênio fosforilase.

Depois de formada a frutose-1-fosfato, outras enzimas são responsáveis pela continuação das reações para o metabolismo da frutose. A enzima aldolase-B catalisa a reação que transforma a frutose-1-fosfato em dois outros subprodutos, o gliceraldeído e diidroxicetona-3-fosfato. O gliceraldeído é então fosforilado a gliceraldeído-3-fosfato pela enzima triose quinase (MAYES, 1993). A diidroxicetona-3-fosfato e o gliceraldeído-3-fosfato são intermediários das vias glicolíticas e neoglicogênicas (NELSON; COX, 2000). Com o aumento súbito destes produtos, segundo BURNS et al. (2000) a via neoglicogênica fica favorecida nos hepatócitos da região periportal enquanto que a via glicolítica é a mais ativa nos hepatócitos da região perivenosa. Esta distinção é explicada pelos autores como derivada da heterogeneidade da capacidade oxidativa entre essas duas regiões. A figura 13 apresenta esquematicamente a distinção do metabolismo da frutose entre a região periportal e perivenosa.

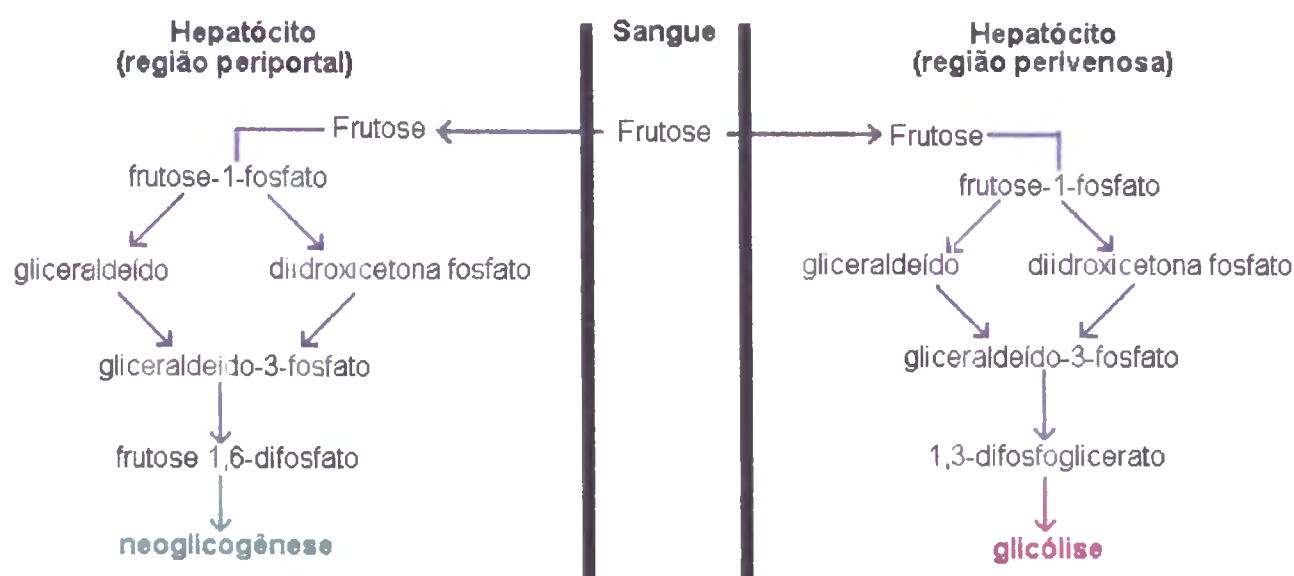


FIGURA 13 – Diferenciação do metabolismo da frutose entre os hepatócitos da região periportal e perivenosa.

O grupo tratado com glicose após a atividade física apresentou conteúdo de glicogênio muscular maior que o grupo que ingeriu frutose (FIGURAS 6 e 7). O fato do grupo que recebeu apenas água após o exercício apresentar conteúdo de glicogênio próximo ao encontrado no grupo treinado descansado, e não apresentar diferença estatisticamente significativa ao grupo que recebeu glicose é, ao primeiro momento, surpreendente, mas outros trabalhos como o de FERREIRA et al. (2001) também encontraram resultados semelhantes com relação ao glicogênio muscular. Os autores sugerem que a reposição do glicogênio muscular a partir de fontes endógenas de carbono, que após passarem pelo processo de neoglicogênese disponibilizariam glicose ao músculo para recuperação parcial das reservas energéticas. Também segundo esses autores, esse mecanismo poderia ser bastante importante na natureza, principalmente na recuperação após situações de fuga e confrontos predador-presa, mas o mecanismo ainda deve ser melhor estudado.

A síntese de glicogênio muscular possui como característica ser bifásica, possuindo uma fase rápida e outra lenta. A fase rápida tem duração de, aproximadamente, 60 min, enquanto que a lenta pode se estender por várias horas após o término da atividade física (GARETTO et al., 1984). Um dos fatores determinantes para a recuperação ótima do glicogênio muscular é a disponibilidade do substrato glicose (COSTILL; HARGREAVES, 1992). Sendo assim, a entrada da glicose na célula muscular é um passo bastante

importante nesse processo (ZIEL; VENKATESAN; DAVIDSON, 1988). A captação de glicose pela célula muscular é mediada por dois membros da família de proteínas facilitadoras do transporte de glicose, GLUT-1 e GLUT-4. O GLUT-1 está presente na superfície da membrana plasmática muscular, responsável pela manutenção das taxas basais do transporte de glicose, necessárias ao metabolismo muscular em repouso (MUECKLER, 1990). Em contra partida, o GLUT-4 fica armazenado em vesículas citoplasmáticas que são mobilizadas ou translocadas para a membrana plasmática muscular, em resposta ao aumento da atividade contrátil muscular ou ligação da insulina ao seu receptor de membrana (KAWANAKA; NOLTE; HAN, 2000). Estudos como os de KAWANAKA et al. (1997) e TERADA et al. (2001) demonstraram que o treinamento de natação, em ratos, pode fazer com que os níveis GLUT-4 muscular fiquem aumentados por até 18 horas, e a responsividade muscular à insulina por até 42 horas, após o término da atividade física.

O transportador da frutose é encontrado na superfície do sarcolema e é denominado GLUT-5, também membro da família dos facilitadores do transporte de glicose. Apesar de pertencer a essa família, o GLUT-5 não possui a capacidade de facilitar o transporte da glicose (DARAKHSHAN, 1998). Como foi citado anteriormente, apenas 30-45% da frutose ingerida fica disponível aos tecidos extra-hepáticos como o muscular, renal e adiposo (TOPPING; MAYES, 1971). Desta forma pouca frutose pode ser utilizada pelo músculo como substrato para ressíntese de glicogênio. Outro ponto determinante na distinção da reposição do glicogênio muscular após a ingestão de frutose ou glicose, é o fato da frutose não estimular a liberação de insulina, nem promover aumentos significativos da glicemia (GERRITS; TSALIKIAN, 1993). TAPPY; JÉQUIER (1993) relataram que a taxa de absorção da frutose pelo músculo esquelético não é influenciada pela insulina.

Reunindo algumas características fisiológicas desencadeadas pela ingestão de frutose, temos um ambiente não muito favorável, quando comparado ao decorrente da ingestão de glicose, para a síntese ótima de glicogênio muscular. Dentre as características fisiológicas observadas após a ingestão de frutose estão: disponibilidade direta ao tecido muscular muito limitada, pouca elevação da glicemia e conseqüentemente também da insulinemia.

Indivíduos sedentários apresentam uma tendência a possuírem maiores concentrações séricas de triacilgliceróis (MURAKAMI et al., 1997). Em nosso estudo, esta

tendência foi observada, mas não houve diferença significativa ao compararmos o grupo sedentário (S) com o grupo exercício descansado (ED). Dentre os grupos que praticaram atividade física no dia do experimento, as maiores concentrações foram encontradas nos grupos que receberam soluções carboidratadas (FIGURA 9), mas apenas o grupo que recebeu frutose (EF) apresentou concentrações significativamente maiores quando comparadas às do grupo que recebeu água (EA). Existem vários trabalhos relatando aumento da trigliceridemia após a ingestão de carboidratos simples, mas os mecanismos envolvidos no processo ainda não são bem compreendidos (MURAKAMI et al., 1997; BANTLE et al., 2000; PARKS; HELLERSTEIN, 2000). Segundo MAYES (1993) o aumento dos triacilgliceróis séricos, após a ingestão de frutose, está relacionada ao aumento da concentração hepática de diidroxiketona-3-fosfato. Ainda, segundo MAYES (1993) a diidroxiketona-3-fosfato está em equilíbrio com a concentração de glicerol-3-fosfato, que é co-substrato para a esterificação de acil-CoA de cadeia longa na síntese de fosfolípidos e triacilgliceróis. Somado a isto, concentrações séricas de frutose da ordem de 1,5 mmol/L tem sido relacionadas a aumentos da atividade da enzima piruvato desidrogenase, enzima que catalisa a reação de transformação do piruvato em acetil-CoA, este, por sua vez, pode ser transportado da mitocôndria para o citosol como citrato e depois re-convertido a acetil-CoA onde pode servir como substrato para lipogênese hepática (MAYES; LAKER, 1986). O possível mecanismo pelo qual a ingestão de frutose induz ao aumento da concentração sérica de triacilglicerol está apresentado na figura 14.

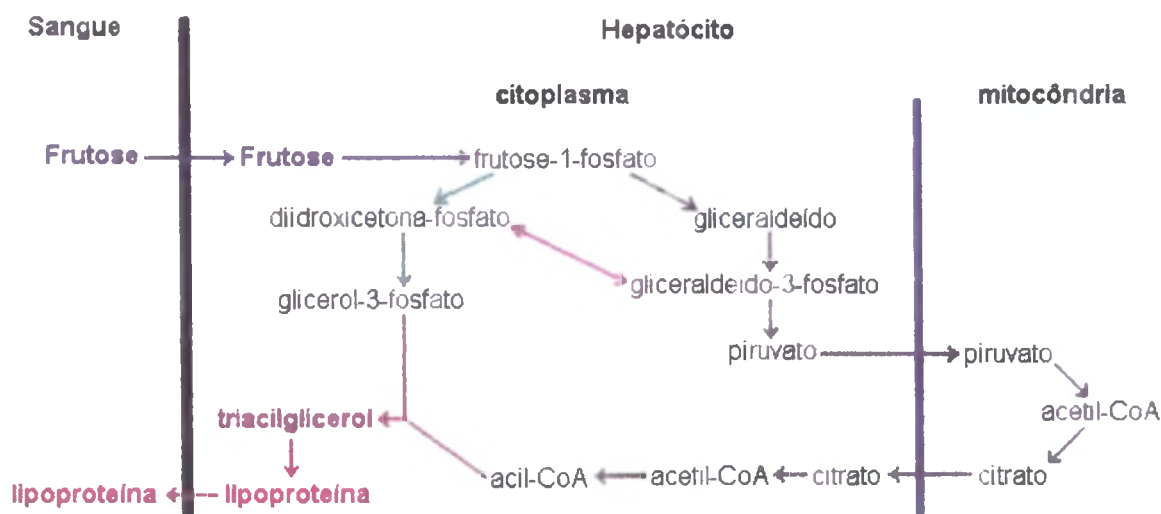


FIGURA 14 – Possível via metabólica responsável pelo aumento da concentração sérica de triacilglicerol após a ingestão de frutose.

As concentrações de lipídeos, totais apresentadas na figura 10, mostraram diferenças significativas apenas quando comparadas à dos grupos exercício água (EA) e exercício frutose (EF) com o grupo exercício glicose (EG). Uma explicação para o observado seria o fato dos grupos exercício água (EA) e exercício frutose (EF) não ingerirem nenhum tipo de substância que estimulasse a liberação de insulina ao contrário do grupo exercício glicose (EG), pois o aumento da glicemia, após a ingestão de glicose, pode estimular a liberação de insulina (ROBERGS; ROBERTS, 2002). A insulina é conhecida por sua propriedade de inibir a lipólise no tecido adiposo o que pode diminuir a concentração de lipídeos no sangue, principalmente na forma de ácidos graxos livres (CURI et al, 2002).

CONCLUSÕES

A ingestão de 1,4 g/Kg/rato de frutose logo após o exercício promoveu uma maior síntese de glicogênio hepático, quando comparada à ingestão de 1,4 g/Kg/rato de glicose.

A ingestão de 1,4 g/Kg/rato de glicose logo após o exercício promoveu uma maior síntese de glicogênio muscular, quando comparada à ingestão de 1,4 g/Kg/rato de frutose.

Diversos atletas precisam treinar várias vezes ao dia, ou participar de competições que exigem a execução de um determinado tipo de exercício em dias consecutivos. Essas demandas exigem que os indivíduos procurem otimizar o processo de recuperação em relação à síntese de glicogênio. Conforme a característica de cada atividade, a escolha do carboidrato ingerido logo após o término do exercício pode ser determinante, e deve ser levado em consideração.

REFERÊNCIAS

- ARKINSTALL, M.J.; BRUCE, C.R.; NIKOLOPOULOS, V.; GARNHAM, A.P.; HAWLEY, J. A. Effects of carbohydrate ingestion on metabolism during running and cycling. **J Appl Physiol.**, 91: 2125-2134, 2001.
- BANTLE, J.P.; RAATZ, S.K.; THOMAS, W.; GEORGOPOULOS, A. Effects of dietary fructose on plasma lipids in healthy subjects. **Am. J. Clin. Nutr.**; 72: 1128-1134, 2000.
- BERGH A.V.D.; HOUTMAN S.; HEERSCHAP A.; REHRER N.J; BOOGERT H.J.V.D. OESEBURG B; HOPMAN T.E. Muscle glycogen recovery after exercise during glucose and fructose infuse monitored by ¹³C-NMR. **J Appl Physiol**; 81(4) : 1495-1500, 1996.
- BERGSTROM, J.; HULTMAN, E. A study of the glycogen metabolism during exercise in man. **Scand J Clin Lab Invest.** 19(3):218-28, 1967.
- BLOM, P.C.S.; HOSTMARK, A.I.; VAAGE, O.; KARDEL, K.R.; MAEHLUM, S. Effect of different post exercise sugar diets on the rate of muscle glucogen synthesis. **Med Sci Sports Exercise.** 19(5): 491-496, 1987.
- BOLLEN, M; KEPPENS, S.; STALMANS, W. Specific features of glycogen metabolism in the liver. **Biochem J.**, 336: 19-31, 1998.
- BURNS, S.P.; MURPHY, H.C.; ILES, R.A.; BAILEY, R.A.; COHEN, R.D. Hepatic intralobular mapping of fructose metabolism in the rat liver. **Biochem. J.** ; 349: 539-545, 2000.
- CIUDAD, C.J.; CARABAZA, A.; GUINOVART, J.J. Glycogen synthesis from glucose and fructose in hepatocytes from diabetic rats. **Arch Biochem Biophys.** 267(2): 437-447, 1988.
- CONLEE R.K.; LAWLER R.M. & ROSS P.E. Effects of glucose or fructose feeding on glycogen repletion in muscle and liver after exercise or fasting. **Ann Nutr Metab** ; 31(2): 126-32, 1987.
- COSTILL, D.L.; HARGREAVES, M. Carbohydrate nutrition and fatigue. **Sports Med.** 13(2): 86-92, 1992
- CRAIG, B. W. The influence of fructose feeding on physical performance. **Am J Clin Nutr** ; 58 : 815S-819S, 1993.
- CURI, R.; POMPEIA, C.; MIYASAKA, C.K.; PROCOPIO, J. **Entendendo a Gordura.** Manole: Barueri-SP, 2002, 580 p.
- DARAKHSHAN, F.; HAJDUCH, E.; KRISTIANSEN, S.; RICHTER, E.A.; HUNDAL, H.S. Biochemical and functional characterization of the GLUT5 fructose transporter in rat skeletal muscle. **Biochem J**; 336: 361-366, 1998.

DAVIES, C. T. M. & KNIBBIS A. The training stimulus: The effects of intensity, duration, and frequency of effort on maximum aerobic power output. **Int. Z. Angew** 20: 299-305, 1971.

DAWSON, C.A.; HORVATH, S.M. Swimming in small laboratory animals. **Med Sci Sports Exercise**. 2(2): 51-76, 1970.

DIRLEWANGER M.; SCHNEITER P.; JÉQUIER E. & TAPPY L. (2000). Effects of fructose on hepatic glucose metabolism in humans. **Am J Physiol Endocrinol Metab** 279: E907-E911, 2000.

DONMOYER, C. M.; EJIOFOR, J.; LACY, D. B.; CHEN, S.; McGUINNESS, O. P. Fructose augments infection-impaired net hepatic glucose uptake during TPN administration. **Am J Physiol Endocrinol Metab**; 280: 703-711, 2001.

DUDLEY, G.A.; ABRAHAM, W.M.; TERJUNG, R.L. Influence of exercise intensity and duration on biochemical adaptations in skeletal muscle. **J Appl Physiol**. 53(4): 844-50, 1982.

FERREIRA, L. D.M.C.-B.; BRÄU, L.; NIKOLOVSKI, S.; RAJA, G.; PALMER, T.N.; FOURNIER, P.A. Effect of streptozotocin-induced diabetes on glycogen resynthesis in fasted rats post-high-intensity exercise. **Am J. Physiol. Endocrinol. Metab.** ; 280: 83-91, 2001.

GARETTO, L.P.; RICHTER, E.A.; GOODMAN, M.N.; RUDERMAN, N.B. Enhanced muscle glucose metabolism after exercise in the rat: the two phases. **Am J Physiol**. 246(6 Pt 1): E471-E475, 1984.

GERRITS, P.M.; TSALIKIAN, E. Diabetes and fructose metabolism. **Am J Clin Nutr**; 58(suppl): 796S-809S, 1993.

GREEN, H.J. Bioenergetics of ice hockey: considerations for fatigue. **J Sports Sci**. 5: 305-317, 1987.

GUYTON, A.C.; HALL, J. E. **Tratado de Fisiologia Médica**. 9ª ed., Rio de Janeiro – RJ, Guanabara Koogan, 1997.

HASSID, W.Z.; ABRAHAMS, S. Chemical procedures for analysis of polysaccharides. **Methods Enzymology**, 3: 34-51, 1957.

HULTMAN, E. Studies on muscle metabolism of glycogen and active phosphate in man with special reference to exercise and diet. **Scand J Clin Lab Invest**, Suppl.94:1-63, 1967.

JENTJENS, R.L.P.G.; LOON, L.J.C.V.; MANN, C.H.; WAGENMAKERS, A.J.M., JEUKENDRUP, A.E. Addition of protein and amino acids to carbohydrates does not enhance postexercise muscle glycogen synthesis. **J Appl Physiol**, 91: 839-846, 2001.

KATCH, F. I.; MACARDLE, W. D. **Nutrição, Exercício e Saúde**, 4ª ed., Rio de Janeiro – RJ, Editora Médica e Científica, 1996.

KAWANAKA, K.; NOLTE, L.A.; HAN, D.; HANSEN, P.A.; HOLLOSZY, J.O. Mechanisms underlying impaired GLUT-4 translocation in glycogen-supercompensated muscles of exercised rats. **Am J Physiol Endocrinol Metab.**, 279: E1311-E1318, 2000.

KAWANAKA, K.; TABATA, I.; KATSUTA, S.; HIGUSHI, M. Changes in insulin-stimulated glucose transport and GLUT-4 protein in rat skeletal muscle after training. **J Appl Physiol.**, 83(6): 2043-2047, 1997.

KOKUBUN, E. **Interações entre o metabolismo de glicose e ácidos graxos livres em músculos esqueléticos.** São Paulo, SP. USP. Tese (Doutorado em Ciências Biomédicas) – Universidade de São Paulo. 1990

LOON, L.J.C.; SARIS, W.H.M.; KRUIJSHOOP, M.; WAGENMAKERS, A.J.M. Maximizing postexercise muscle glycogen synthesis: carbohydrate supplementation and the application of amino acid or protein hydrolysate mixtures. **Am J Clin Nutr**; 72: 106-111, 2000.

MAUGHAN, R.; GLEESON, M. & GREENHAFF, P. L. **Bioquímica do Exercício e do Treinamento.** 1ª ed., São Paulo - SP, Manole. 2000.

MAYES, P.A. Intermediary metabolism of fructose. **Am J Clin Nutr**; 58(suppl): 754S-765S, 1993.

McARDLE, W. D.; KATCH, F. I.; KATCH, V. L.. **Fisiologia do Exercício, Energia, Nutrição e Desempenho Humano.** 4ª ed. Rio de Janeiro-RJ. Guanabara Koogan. 1998.

MUECKLER, M. Family of glucose-transporter genes. Implications for glucose homeostasis and diabetes. **Diabetes.** 39(1): 6-11, 1990.

MURAKAMI, T.; SHIMOMURA, Y.; FUJITSUKA, N.; SOKABE, M.; OKAMURA, K.; SAKAMOTO, S. Enlargement of glycogen store in rat liver muscle by fructose-diet intake and exercise training. **J. Appl. Physiol.**; 83(2): 772-775, 1997.

NAKATANI, A.; HAN, D.; HANSEN, P.A.; NOLTE, L.A.; HOST, H.H.; HICKNER, R.C.; HOLLOSZY, J.O. Effect of endurance exercise training on muscle glycogen supercompensation in rats. **J Appl Physiol.**, 82(2): 711-715, 1997.

NELSON, D.L.; COX, M.M. **Lehninger Principles of Biochemistry.** Worth: 3rd, New York-NY, 2000, 1152 p.

NICULESCU, L.; VEIGA-DA-CUNHA, M.; SCHAFTINGEN, E.V. Investigation on the mechanism by fructose, hexitols and other compounds regulate the translocation of glucokinase in rat hepatocytes. **Biochem J.**, 321: 239-246, 1997.

NILSSON, S.; HULTMAN, E. Liver and muscle glycogen in man after glucose and fructose infusion. **Scand. J. clin. Lab. Invest.**; 33: 5-10, 1974.

PARK, Y.K.; YETLEY, A.E. Intakes and food sources of fructose in the United States. *Am J Clin Nutr*; 58(suppl): 737S-747S, 1993.

PARKS, E.J.; HELLERSTEIN, M.K. Carbohydrate-induced hypertriacylglycerolemia: historical perspective and review of biological mechanisms. *Am. J. Clin. Nutr.*; 71: 412-433, 2000.

PERNOW, B.; SALTIN, B. Availability of substrates and capacity for prolonged heavy exercise in man. *J Appl Physiol*. 31(3):416-22, 1971.

PETERSON, K. F.; LAURENT, D.; YU, C.; CLINE, G.W.; SHULMAN, G.I. (2001) Stimulating effects of low-dose fructose on insulin-stimulated hepatic glycogen synthesis in humans. *Diabetes*; 50: 1263-1268, 2001.

POWERS, S.K.; HOWLEY, E.T. **Fisiologia do Exercício, Teoria e Aplicação ao Condicionamento e ao Desempenho**. 1ª ed., Manole: Barueri-SP, 2000, 527p.

ROBERGS, R.A.; ROBERTS, S.O. **Princípios Fundamentais de Fisiologia do Exercício para a aptidão, desempenho e saúde**. Phorte editora: São Paulo-SP, 2002, 489 p.

ROMBALDI, A. J. **Alguns Efeitos Bioquímicos da ingestão de carboidrato líquido na realização de trabalho intermitente de alta intensidade em ratos**. Santa Maria, RS. UFSM. Tese (Doutorado em Ciência do Movimento Humano) – Universidade Federal de Santa Maria. 1996.

SJORGREEN, B.; NORDENSKJOLD, T.; HOLMGREN, H; WÖLLERSTRON, J. Beitrag zur kenntnis des lebenhythmik. *Pflügers Arch. Gesamte Physiol. Menschen Tiere*, 240:247.1938

TAPPY, L.; JÉQUIER, E. Fructose and dietary thermogenesis. *Am J Clin Nutr*; 58(suppl): 766S-770S, 1993.

TERADA, S.; YOKOZEKI, T.; KAWANAKA, K.; OGAWA, K.; HIGUCHI, M.; EZAKI, O.; TABATA, I. Effects of high-intensity swimming training on GLUT-4 and glucose transport activity in rat skeletal muscle. *J Appl Physiol.*; 90: 2019-2024, 2001.

TOPPING, D.L.; MAYES, P.A. The concentrations of fructose, glucose and lactate in the splanchnic blood vessels of rats absorbing fructose. *Nutr Metabol.*, 13: 331-338, 1971.

TOUNIAN, P.; SCHNEITER, P.; HENRY, S.; JÉQUIER, E.; TAPPY, L. Effects of infused fructose on endogenous glucose production, gluconeogenesis, and glycogen metabolism. *Am. J. Physiol.* ; 267: 710-717, 1994.

TRINDER, R. Determination of glucose in the blood using glucose oxidase with alternative oxygen acceptor. *Ann Clin Biochem*. 6: 24-27, 1969.

VIEIRA, R.V.; HAEBISCH, H.; KOKUBUN, E.; HELL, N.S. & CURI, C. Sistema de natação para exercício físico de ratos. *Arquivo de Biologia e Tecnologia*, 31(3): p. 387-394.1988

VOLLESTAD, N.K.; BLOM, P.C.. Effect of varying exercise intensity on glycogen depletion in human muscle fibers. *Acta Physiol Scand.* 125: 395-405, 1985.

WILMÓRE, J. K. & COSTILL, D. L. *Fisiologia do Esporte e do Exercício.* 1ª ed., Manole, Barueri-SP, 2001

WOLF, B.W.; HUMPHREY, P.M.; HADLEY, C.W.; MAHARRY, K.S.; GARLEB, K.A.; FIRKINS, J.L. Supplemental fructose attenuates postprandial glycemia in Zucker fatty fa/fa rats. *J. Nutr.*; 132: 1219-1223, 2002.

WOLINSKY, I.; HICKSON, J.F.J. *Nutrição no Exercício e no Esporte.* 2ªed. Roca: São-Paulo-SP, 2002, 646 p.

YOUN, J.H.; KASLOW, H.R.; BERGMAN, R.N. Fructose effect to suppress hepatic glycogen degradation. *J Biological Chemis*; 262(24): p.11470-11477, 1987.

ZIEL, F.H.; VENKATESAN, N.; DAVIDSON, M.B. Glucose transport is rate limiting for skeletal muscle glucose metabolism in normal and STZ-induced diabetic rats. *Diabetes.* 37(7): 885-890, 1988.