

CRISTINA PESSINI

**EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE β -HIDROXI- β -METILBUTIRATO
(HMB) SOBRE PARÂMETROS BIOQUÍMICOS E FISIOLÓGICOS EM
RATOS SUBMETIDOS A TREINAMENTO ANAERÓBICO**

Monografia apresentada como requisito parcial
para conclusão do Curso de Licenciatura em
Educação Física, do Departamento de
Educação Física, Setor de Ciências Biológicas,
da Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Raul Osieck

**CURITIBA
2003**

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a DEUS, pela graça da vida.

A minha família que proporcionou a educação, apoio e oportunidades adequadas para que eu chegasse a esta Universidade.

Ao meu amigo eterno Fábio R. Hess, que sempre me incentiva com seus gestos de apoio e carinho.

Ao Prof. Dr. Raul Osiecki, meu Orientador, e responsável por me despertar grande interesse pelas maravilhosas Ciências Bioquímica e Fisiologia do Exercício.

Ao Prof. Dr. Luiz Cláudio Fernandes, por me apoiar e ceder a estrutura necessária, para os experimentos desta pesquisa, em seu Laboratório de Fisiologia no Setor de Ciências Biológicas da UFPR.

A todos professores do Departamento de Educação Física da UFPR que, ensinando ou, de alguma forma, me auxiliaram na realização e conclusão deste curso.

Aos colegas Gabriella Paul e Everson A. Nunes, pelo auxílio e conhecimentos trocados durante o período desta pesquisa.

RESUMO

Esta pesquisa procurou investigar os efeitos da suplementação de β -hidroxi- β -metilbutirato (HMB) sobre as concentrações plasmáticas de colesterol total, HDL, LDL, VLDL, triglicerídeos, glicose, sobre a concentração sérica de lactato sanguíneo após exercício aeróbico (pré e pós-teste) e após exercício anaeróbico (pós-teste), e sobre o peso corporal em ratos *Winstar*, submetidos a treinamento anaeróbico intenso. A suplementação foi administrada na dosagem de 100mg/kg de peso corporal por dia, via gavagem, com duração 30 dias assim como o treinamento, que consistia em uma sessão diária de 10 repetições de 30" de saltos, realizados em tanques de água, com 1' de intervalo, e sobrecarga de 20% a 50% do peso corporal do rato. A suplementação com HMB não teve efeito sobre a evolução do peso corporal, nem sobre o colesterol total, LDL, VLDL, triglicerídeos e glicemia, dos diferentes grupos de animais. Observou-se aumento significativo na concentração de HDL-col no grupo exercitado suplementado, ($p=0,01$), se comparado aos outros grupos. Porém não houve significância para o grupo exercitado não suplementado mostrando que, a suplementação com HMB, associada ao treinamento anaeróbico, aumentou os níveis plasmáticos de HDL, enquanto que somente o treinamento anaeróbico utilizado nesta pesquisa, sem suplementação, não foi eficiente para o aumento da concentração desta variável. A suplementação com HMB foi eficiente em diminuir as concentrações de lactato sanguíneo sérico após exercício anaeróbico ($p=0,0003$). O treinamento anaeróbico, associado à suplementação com HMB, não tiveram efeito sobre concentração de lactato após teste aeróbico provando que não auxiliaram na capacidade de endurance.

Palavras-Chave: β -hidroxi- β -metilbutirato (HMB), treinamento anaeróbico, lactato sanguíneo, colesterol.

SUMÁRIO

RESUMO	iii
LISTA DE TABELAS	vi
LISTA DE GRÁFICOS	vii
LISTA DE FIGURAS	viii
1.0 INTRODUÇÃO	1
1.1 APRESENTAÇÃO DO PROBLEMA.....	1
1.2 OBJETIVOS.....	3
1.2.1 Objetivo Geral.....	3
1.2.2 Objetivos Específicos.....	3
1.3 HIPÓTESES.....	3
2.0 REVISÃO DE LITERATURA	4
2.1 β -HIDROXI- β -METILBUTIRATO (HMB) – HISTÓRICO.....	4
2.2 ENERGIA LIBERADA DOS LIPÍDIOS.....	5
2.3 ENERGIA LIBERADA DAS PROTEÍNAS.....	6
2.4 ENERGIA LIBERADA DOS CARBOIDRATOS.....	7
2.5 BIOQUÍMICA DO HMB.....	9
2.6 PERFIL LIPÍDICO E SUPLEMENTAÇÃO COM HMB.....	12
2.7 RESPOSTA DO LACTATO AO EXERCÍCIO FÍSICO.....	13
3.0 MATERIAL E MÉTODOS	16
3.1 ANIMAIS EXPERIMENTAIS.....	16
3.2 INSTRUMENTOS E PROCEDIMENTOS.....	16

3.2.1 Suplementação.....	16
3.2.2 Programa de Treinamento.....	17
3.2.3 Peso Corporal.....	20
3.2.4 Concentração de Lactato Sanguíneo.....	20
3.2.5 Sacrifício dos animais e análises bioquímicas.....	20
3.3 PLANEJAMENTO DE PESQUISA E TRATAMENTO ESTATÍSTICO.....	21
4.0 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	22
4.1 PESO CORPORAL.....	22
4.2 ANÁLISES BIOQUÍMICAS.....	23
4.3 CONCENTRAÇÃO DE LACTATO SANGUÍNEO.....	28
4.4 DESEMPENHO DURANTE O TREINAMENTO.....	32
5.0 CONCLUSÃO.....	35
REFERÊNCIAS.....	ix

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – “Design” de Pesquisa.....	16
TABELA 2 – Progressão da carga durante o programa de treinamento. Carga em % do peso corporal.....	18
TABELA 3 – Programa Semanal do Treinamento.....	18
TABELA 4 – Valores médios e desvio padrão das medidas de peso corporal de cada grupo.....	22
TABELA 5 – Valores médios e desvio padrão das concentrações plasmáticas das variáveis analisadas.....	24
TABELA 6 – Valores de lactato sanguíneo sérico após teste anaeróbico com carga de 50% do peso corporal.....	28
TABELA 7 – Concentrações de lactato sanguíneo (mmol/l) dos grupos, após teste aeróbico, pré e pós-suplementação.....	31
TABELA 8 – Média de saltos realizados por repetição (sendo dez a cada sessão), e número de sessões para cada carga (% do peso corporal), durante o período de treinamento (Média±DP).....	33

LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1 – Média e Desvio Padrão da evolução do peso corporal dos grupos para cada uma das medidas.....	23
GRÁFICO 2 – Concentrações plasmáticas de HDL-col (mg/dl) individuais e média por grupo.....	25
GRÁFICO 3 – Concentrações plasmáticas de LDL-col (mg/dl) individuais e média por grupo.....	25
GRÁFICO 4 – Média e desvio padrão das concentrações plasmáticas das variáveis bioquímicas analisadas: colesterol total (C-TOT), HDL, LDL, VLDL, triglicerídeos (TRI) e glicose (GLI).....	26
GRÁFICO 5 – Concentrações do lactato sanguíneo individuais e média dos grupos treinados, após teste anaeróbico.....	29
GRÁFICO 6 – Comparações entre valores de média e desvio padrão da concentração de lactato após teste aeróbico dos grupos, entre os testes pré e pós-suplementação.....	31
GRÁFICO 7 – Evolução das médias de saltos realizados por carga aplicada aos animais (% do peso corporal), durante o período de treinamento (Média±DP).....	34

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – Esquema simplificado da formação dos corpos cetônicos.....	6
FIGURA 2 – Esquema simplificado da desaminação do aminoácido leucina. O HMB forma o HMG-CoA, importante para as funções da membrana celular muscular.....	11
FIGURA 3 – Sistema de natação: estrutura utilizada para o treinamento, onde o tubo central bombeia e aquece a água para os dez tubos laterais.....	17
FIGURA 4 – Treinamento de saltos em tubos individuais. As cordas puxam o tubo mais estreito para fora da água do tubo maior para o descanso entre as repetições.....	19
FIGURA 5 – Colete de sobrecarga.....	19

1.0 INTRODUÇÃO

1.1 APRESENTAÇÃO DO PROBLEMA

A prática de exercício físico intenso e/ou prolongado causa grandes alterações a nível microcelular nas fibras musculares. Ações como degradação das proteínas estruturais, rompimento da membrana celular, acúmulo de enzimas causadoras da lesão muscular e da dor tardia, são os resultados do exercício intenso (WILMORE e COSTILL, 2000). A quantidade de enzimas encontradas no sangue, como o lactato e a creatina quinase, após o exercício, indicam o grau de ruptura no tecido muscular. Conseguir soluções para retardar e diminuir todos estes danos causados durante o exercício extenuante seria de grande benefício. Por isso, o uso de recursos nutricionais por atletas é quase inevitável para ganhos de performance. Cada vez surgem mais recursos ergogênicos e pesquisas a fim de comprovar sua real utilidade e encontrar outras mais.

Ergogênico se refere à “aplicação de um procedimento ou recurso nutricional, físico, mecânico, psicológico ou farmacológico capaz de aprimorar a capacidade de realizar trabalho físico ou desempenho atlético” (FOSS e KETEVAN, 2000). De acordo com Armstrong (1986), citado por Knitter (2000), na década de 80 não havia nenhuma evidencia direta de que algum recurso nutricional, droga ou tratamento médico poderia prevenir o estrago muscular causado pelo exercício ou apressar a recuperação das injúrias causadas ao músculo pelo exercício. Mas, atualmente, a ação e efeitos da maioria dos suplementos nutricionais estão comprovados pelas várias pesquisas existentes e em andamento (NISSEN et al, 2000; OSTASZEWSKI et al, 2000; VUKOVICH et al, 1997). Porém alguns ergogênicos ainda não têm seus efeitos explicados nem comprovados cientificamente, isso devido à falta de pesquisas a longo prazo ou mesmo a falta de rigorosidade das pesquisas existentes.

Muitos fisiculturistas e levantadores de peso utilizam uma variedade de suplementos comerciais para maiores ganhos de força e massa muscular e diminuição da massa gorda. Pesquisas têm mostrado que o suplemento β -hidroxi- β -metilbutirato

(HMB), teria um papel importante na inibição e/ou retardamento da quebra de proteínas que causam danos musculares, respondendo às expectativas dos atletas de força.

O HMB é um metabólito que surge da quebra do aminoácido leucina, e é produzido naturalmente pelo nosso corpo. De acordo com NISSEN (1996), um dos maiores pesquisadores sobre o HMB, o mecanismo exato deste ergogênico a nível celular não é totalmente conhecido. Porém, relata que a leucina, seu cetoácido α -cetoisocaproato (KIC), e um dos metabólitos que surge destes, o β -hidroxi- β -metilbutirato (HMB), são responsáveis por minimizar a perda de nitrogênio da célula muscular, conseqüentemente diminuindo a quebra de proteínas (proteólise) e destruição das fibras musculares.

Estudos têm demonstrado que a suplementação com o HMB, associada a um treinamento de resistência com pesos, pode resultar em maiores ganhos de massa muscular, diminuição do percentual de gordura e aumento da força muscular (NISSEN et al, 1996; KNITTER et al, 2000; VUKOVICH et al, 2001). Outros efeitos têm sido encontrados com a suplementação com HMB, como por exemplo, o aumento da capacidade aeróbica em ciclistas de longa distância (VUKOVICH e DREIFORT, 1997) e a diminuição dos fatores de riscos para doenças cardiovasculares como a diminuição da pressão arterial sistólica e do colesterol sanguíneo (NISSEN et al, 2000).

Muitos estudos têm encontrado efeitos na ingestão do suplemento HMB, porém nem todos foram feitos com a devida rigorosidade, pois há uma contradição encontrada entre os vários estudos que deixam dúvidas quanto aos resultados que podem ser alcançados e quanto a ação bioquímica do HMB que até hoje não foi elucidada. A suplementação de HMB, se comparada a outros suplementos alimentares, tem poucas pesquisas que a fundamente e a justifique, necessitando de mais estudos e nos mais variados casos. Além disso, estudos em modelos animais, sobre a suplementação do HMB associada a treinamentos de diferentes características, apresentam-se limitados.

Assim, este experimento procurará elucidar a seguinte questão de pesquisa: “Quais os efeitos promovidos pela suplementação com HMB em ratos submetidos a treinamento com características anaeróbicas?”

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Objetivo Geral

Investigar os efeitos da suplementação com o β -hidroxi- β -metilbutirato (HMB), sobre parâmetros bioquímicos e fisiológicos em ratos submetidos a treinamento anaeróbico intenso.

1.2.2 Objetivos Específicos

Analisar e comparar os efeitos quanto aos aspectos bioquímicos obtidos com a suplementação de HMB na análise sanguínea dos níveis colesterol total, HDL, LDL, VLDL, triglicérides e glicemia, de ratos submetidos a treinamento anaeróbico intenso.

Comparar a performance em testes aeróbico e anaeróbico entre os grupos experimentais através da análise da concentração do lactato sanguíneo.

1.3 HIPÓTESES

- H1- No grupo suplementado e exercitado, a ação do β -hidroxi- β -metilbutirato (HMB) contribuirá para a diminuição do acúmulo do lactato sanguíneo e dos danos a nível microcelular das fibras com conseqüente melhoria da performance no exercício anaeróbico.
- H2- Poderão ser obtidas diferenças do perfil lipídico entre o grupo de ratos exercitados e suplementados e entre o grupo exercitado não suplementado.

2.0 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 β-HIDROXI-β-METILBUTIRATO (HMB) - HISTÓRICO

A Incorporação de Tecnologia Metabólica (MTI), foi fundada e incorporada em Iowa em 16 de janeiro de 1990. O primeiro propósito da companhia era desenvolver e comercializar o HMB, um componente bioquímico natural.

Durante as pesquisas para o crescimento de ratos magros Dr. Steven L. Nissen da Universidade Estadual de Iowa descobriu o HMB, em sua pesquisa. Nissen observou que o aminoácido leucina era convertido em HMB (β-hidroxi-β-metilbutirato) em pequenas quantidades no corpo. Ele hipotetizou que o HMB era um metabólito bioativo da leucina responsável pela regulação do armazenamento de proteína.

Em 1991-1992, pesquisas sobre o uso potencial do HMB em humanos foram conduzidas com sucesso por Nissen e pela Dra. Najj Abumrad da Universidade de Vanderbilt. A patente do estudo foi um assunto assegurado pela Fundação de Pesquisas da Universidade Estadual de Iowa e pela Universidade de Vanderbilt.

A Incorporação de Tecnologia Metabólica (MTI) comercializou o primeiro produto com HMB nacionalmente em 1995, pouco tempo depois o HMB foi introduzido no mercado de fisiculturismo dando início a sua venda. Nas evidências científicas se tornou claro que o HMB era um nutriente condicionalmente essencial, ou seja, um nutriente que não precisa ser suprido em condições normais, somente em casos de extrema necessidade.

Foi definido que o HMB, assim como outros nutrientes, poderiam maximizar a função muscular. Nissen e seu grupo se uniram ao Dr. Robert Clark, especialista em doenças infecciosas, que trabalhou com pacientes com AIDS. O primeiro resultado do estudo com aidéticos foi animador, onde os usuários do HMB ganharam peso e massa muscular, enquanto que os usuários de placebo perderam massa muscular.

Depois do sucesso no estudo com AIDS, Nissen e seu grupo se uniram ao Dr. James D'Olimpio em Nova Iorque, Dr. Patricia Eubanks May e Dr. Annabel Barber,

em Nevada, para conduzir no Instituto Nacional de Câncer junto ao SBIR, a fase I de um estudo em pacientes com câncer. Os resultados foram novamente positivos nos usuários. Resumindo, ganharam massa muscular aqueles suplementados e os usuários de placebo continuaram perdendo músculos. Esses resultados positivos foram apresentados em um encontro em 2001 pela American Society of Clinical Oncology e resultou no início da fase II SBIR pelo Instituto Nacional do Câncer. Este estudo ainda está em andamento com os mesmos membros. São estudos envolvendo pacientes que apresentam distrofia muscular, artrite reumatóide e trauma. (METABOLICS TECHNOLOGIES INCORPORATED)

2.2 ENERGIA LIBERADA DOS LIPÍDIOS

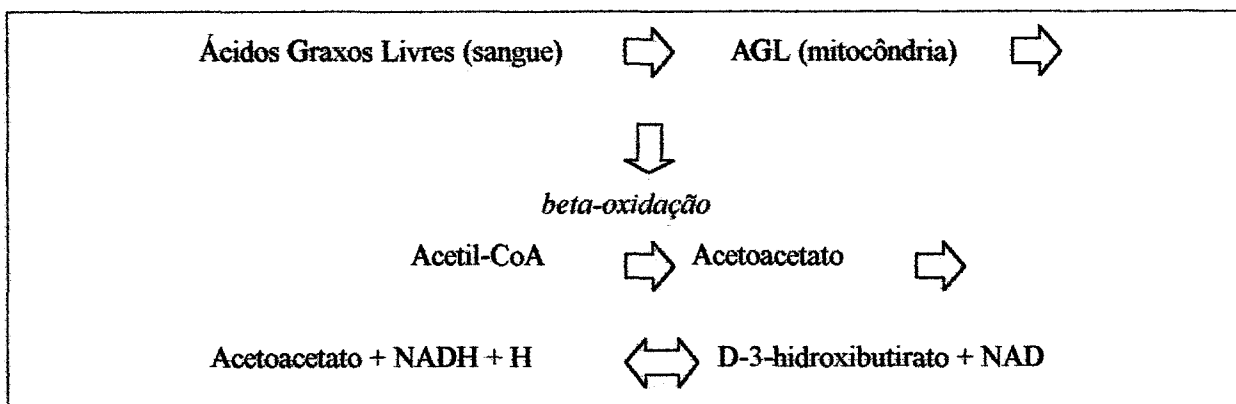
A atividade física de alta intensidade e/ou longa duração acarreta numa depleção significativa de glicogênio muscular, então a gordura passa a constituir o combustível energético primário durante o exercício e a recuperação (MCARDLE et al, 1998).

Das gorduras existentes no organismo, somente os triglicerídeos são fontes de energia. São armazenados nas células adiposas e no interior e entre as fibras musculares. Para ser utilizado na produção de energia, o triglicerídeo deve ser quebrado em uma molécula de glicerol e três moléculas de ácido graxo livre, as quais são a principal fonte energética. Esse processo é chamado de lipólise (WILMORE et al, 2001). Os ácidos graxos livres entram na corrente sanguínea e desta para as nas fibras musculares, por difusão. Nas mitocôndrias são catabolizados pelo processo de beta-oxidação, formando ácido acetil, que dará origem ao acetil-CoA, este que entra no Ciclo de Krebs. Porém, o acetil-CoA só entra no ciclo de krebs desde que haja suficiente oxaloacetato, proveniente do metabolismo dos carboidratos, para a formação de citrato. Quando a degradação lipídica predomina e/ou a disponibilidade de oxaloacetato é reduzida, a acetil-CoA é desviada para a formação de cetonas no fígado, pois somente o fígado é capaz de sintetizar corpos cetônicos. Essa situação surge durante jejum, exercício prolongado, depleção de oxigênio e no *diabetes*

mellitus (MAUGHAN et al, 2000). McArdle (1998), explica esta relação dizendo que “as gorduras queimam em uma chama de carboidratos”. Então, a maioria das moléculas de acetil-CoA são condensadas para formar o *acetoacetato* que, posteriormente será reduzido para *3-hidroxiacetato* se a relação NADH:NAD for elevada nas mitocôndrias. Há ainda um terceiro membro dos corpos cetônicos que é a *acetona*, formada pela descarboxilação do acetoacetato (HOUSTON, 1995). A FIGURA 1 resume a formação dos corpos cetônicos.

A captação de cetonas plasmáticas no miocárdio, nos rins e no cérebro fornece uma fonte alternativa de combustível para esses órgãos nos momentos de baixa disponibilidade de carboidratos e até mesmo inanição e também auxilia na conservação da glicose sanguínea. No entanto, esta situação torna a qualidade dos líquidos corporais ácida, e seu acúmulo no sangue não pode ser tolerado em níveis elevados. O limiar renal baixo para a reabsorção de cetonas permite uma perda significativa pela urina e como sinal de elevadas quantidades de corpos cetônicos no organismo, a acetona exalada pela respiração é percebida no ar (HOUSTON, 1995), por isto quando uma pessoa que pratica exercício e está em dieta com restrição de carboidratos, exala cheiro característico no ar expirado.

FIGURA 1 – Esquema simplificado da formação dos corpos cetônicos



2.3 ENERGIA LIBERADA DAS PROTEÍNAS

A proteína pode desempenhar papel importante como substrato energético durante exercício constante e treinamento intenso quando as reservas glicolíticas e

lipídicas já foram, parcial ou totalmente, depletadas. Neste caso, os aminoácidos, que formam as proteínas, é que deverão ser transformados primeiro em uma forma que consiga penetrar prontamente nas vias bioquímicas para a liberação de energia. Exemplo destes são os aminoácidos de cadeia ramificada leucina, isoleucina, valina, glutamina e aspartato. Este processo é chamado *desaminação* onde ocorre a remoção do nitrogênio da molécula do aminoácido. Apesar do local principal para este processo ser o fígado, o músculo esquelético também contém as enzimas necessárias para remover o nitrogênio e transferi-lo para um outro composto em um processo chamado *transaminação* (MCARDLE et al, 1998). Depois que o grupo amino é removido do aminoácido, o esqueleto de carbono residual é um dos compostos reativos no ciclo de Krebs e pode contribuir para a formação de ATP.

Alguns aminoácidos (glutamina, prolina e arginina, por exemplo) são glicogênicos (HOUSTON, 1995), ou seja, quando desaminados produzem piruvato, oxaloacetato ou malato, cada um dos quais é intermediário para a síntese da glicose através da gliconeogênese.

Outros aminoácidos são considerados cetogênicos, como leucina e lisina, e quando desaminados produzem os corpos cetônicos acetil-CoA ou acetoacetato. Estes compostos não são usados para sintetizar glicose, mas podem ser sintetizados para lipídios ou catabolizados para a obtenção de energia diretamente pelo ciclo de krebs. E alguns aminoácidos essenciais como isoleucina e triptofano são considerados tanto glicogênicos como cetogênicos, pois seus esqueletos de carbono contribuem para a formação de glicose e também corpos cetônicos (HOUSTON, 1995).

2.4 ENERGIA LIBERADA DOS CARBOIDRATOS

Um outro método de produção de ATP envolve a liberação de energia através da degradação da glicose. Esse sistema é denominado sistema glicolítico por envolver a glicólise, que é a degradação da glicose por meio de enzimas glicolíticas especiais.

A glicose sanguínea é originária da digestão de carboidratos e da degradação do glicogênio hepático. O glicogênio é sintetizado a partir da glicose por meio de um

processo chamado glicogênese. O glicogênio é armazenado no fígado ou no músculo até que seja solicitado. A utilização da glicose e glicogênio para gerar energia é um processo que não necessita de oxigênio e por isto chamado de anaeróbio. A glicólise, em última instância, produzirá ácido pirúvico, este que será convertido em ácido láctico (que será melhor discutido num capítulo posterior). O sistema glicolítico de geração de energia não produz grandes quantidade de ATP, porém é um processo que, junto com o sistema ATP-PC, permitem que os músculos gerem força mesmo quando o suprimento de oxigênio é limitado, e rapidamente. São sistemas que predominam durante os minutos iniciais do exercício de alta intensidade.(WILMORE et al, 2001)

A quantidade de glicose liberada pelo fígado depende da intensidade e da duração do exercício. Quanto mais intensa a atividade, maior a taxa de liberação de catecolaminas (adrenalina e noradrenalina) e, isto faz com que o fígado libere mais glicose do que a quantidade que pode ser captada pelos músculos ativos. Isto porque os músculos já possuem suas próprias reservas de glicogênio antes de utilizar a glicose plasmática durante o exercício explosivo de curta duração. A glicose liberada do fígado então não é prontamente utilizada permanecendo na circulação aumentando a glicose plasmática em até 40% a 50% acima do nível de repouso. Esta glicose será progressivamente diminuída, após o exercício, a medida que o músculo necessite para repor as reservas de glicogênio muscular depletadas.(WILMORE et al, 2001)

A captação da glicose pelos músculos não depende somente da liberação de quantidades suficientes da glicose para o sangue, mas também depende da captação das células musculares, isto sendo tarefa da insulina. Quando a glicose é liberada para o músculo a insulina facilita o seu transporte para o interior das fibras. Porém, a concentração plasmática de insulina tende a diminuir com o exercício submáximo e prolongado mesmo tendo a glicose aumentado. Isso apenas nos lembra que a atividade de um hormônio nem sempre é determinada pela sua concentração no sangue, mas sim pela sensibilidade celular a ele. Então a sensibilidade celular à insulina é tão importante quanto sua quantidade no sangue. O exercício pode aumentar a ligação da insulina aos receptores sobre a fibra muscular, isto porque, por razões não totalmente compreendidas, os músculos ativos tem maior número de receptores ativos em suas

células. Isso diminui a necessidade de elevadas concentrações de insulina no sangue para o transporte da glicose para dentro do músculo. Isto é importante porque, durante o exercício, quatro hormônios (glucagon, adrenalina, noradrenalina e cortisol) tentam liberar glicose de seus sítios de armazenamento e tentam produzir mais glicose. Se as concentrações de insulinas fossem altas iriam se opor à ação desses hormônios impedindo o aumento necessário de suprimento da glicose plasmática. (WILMORE et al, 2001)

2.5 BIOQUÍMICA DO HMB

Os corpos cetônicos são constituídos pelo acetoacetato, 3-hidroxi-butirato e acetona, e podem ser provenientes do metabolismo das gorduras como também da degradação dos aminoácidos cetogênicos no metabolismo das proteínas. O termo *turnover* da proteína é usado como expressão que inclui a síntese e a quebra de proteínas. O balanço nitrogenado é determinado pela diferença entre o nível de proteína sintetizadas e quebradas. Uma das atividades metabólicas do aminoácido essencial leucina inclui a regulação do turnover protéico (OSTASZEWSKI et al, 2000). Segundo Nissen et al (1997), os efeitos metabólicos e de regulação da leucina são conhecidos há mais ou menos trinta anos, mas ainda não está claro como a leucina ou seu cetoácido, α - ketoisocaproato (KIC) interagem com o metabolismo de proteínas. Nesta revisão desenvolvida por Nissen, foi proposta a hipótese que um metabólito da leucina e do KIC denominado β -hidroxi- β -metilbutirato (HMB), é responsável pelos efeitos metabólicos da leucina e do KIC.

O meio de degradação da leucina inicia com a transaminação reversível para α -ketoisocaproato (KIC) nas mitocôndrias das células musculares. Porém a maioria da oxidação do KIC ocorre no fígado. No esquema proposto por Sanbourn em 1981 (NISSEN et al, 1997), sobre o caminho metabólico da leucina e KIC, o HMB é produzido a partir do KIC pela ação da enzima KIC-dioxigenase no fígado e possivelmente, mas em pequena quantidade, em outros tecidos. Aproximadamente 10% da leucina presente no corpo é metabolizada para HMB pela ação desta enzima.

Esta enzima requer oxigênio molecular e difere das outras enzimas do caminho metabólico da leucina. Sendo o fígado o maior órgão do corpo com atividade da enzima oxygenase, é lá que se encontra a maior produção do HMB. Os 90% restante de leucina são oxidados na mitocôndria (FIGURA 2). A produção de HMB parece aumentar em indivíduos com diabetes, podendo ser uma hipótese que explica isto o aumento da atividade da enzima dioxigenase (NISSEN et al, 1997).

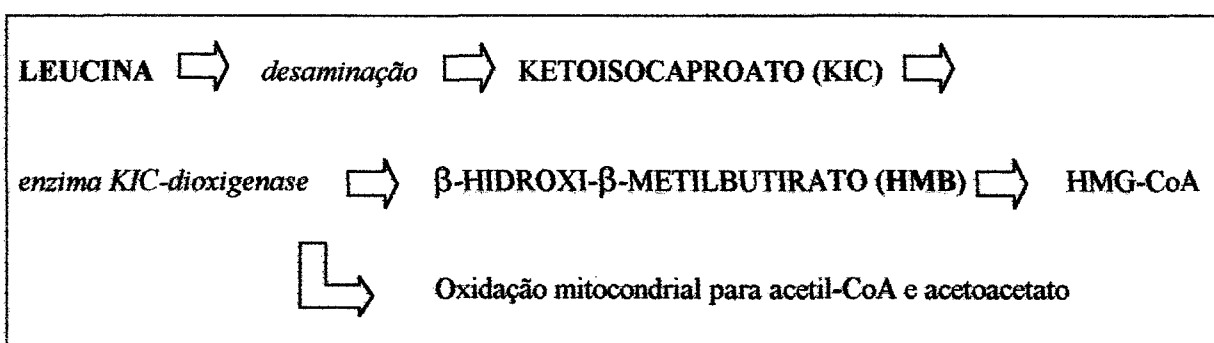
A pesquisa *in vitro* em musculatura incubada de ratos e aves de Ostaszewski, (2000), mostra que a ação da leucina, no turnover das proteínas, é quase totalmente ao nível de síntese protéica e a ação de seus metabólitos HMB/KIC é significativa na inibição da quebra protéica. Foi constatado também que o HMB é mais efetivo em musculaturas em condições extremamente catabólicas, como no caso de indivíduos com distrofia muscular, câncer e AIDS. Nesta mesma pesquisa, HMB e leucina mostraram ação significativa na regulação do turnover nas fibras brancas, porém pouco significativos foram os resultados nas fibras vermelhas. Muitos estudos (PETERSON et al, 1999; SIWICKI et al, 2000) mostram também a ação eficaz do HMB no sistema imunológico de animais.

Voltando ao caminho bioquímico do HMB, no fígado e músculo o HMB é convertido a β -hidroxi- β -metilglutaril-CoA (HMG-CoA), via desidratação do HMB para MCA-CoA ou carboxilação direta para HMG-CoA. Segundo Nissen (1997), apesar dos poucos estudos que comprovem isto, há muitos que mostram a hipótese de um carbono do HMB ser prontamente incorporado no colesterol. Mas ainda não está claro qual a porcentagem dos carbonos do colesterol que são derivados do HMB. O HMG-CoA citoplasmático produzido do HMB pode providenciar um substrato adequado para a enzima HMG-CoA reductase, a qual é uma importante etapa da formação do colesterol. Pode-se então dizer que o HMB é um dos precursores do colesterol, este que é importante componente da membrana celular de tecidos, como o músculo, que fazem parte da síntese de colesterol. Células danificadas ou mortas poderão não sintetizar suficiente HMG-CoA para a síntese de colesterol, assim a suplementação com HMB poderá ser recurso conveniente para a manutenção da

síntese de colesterol e conseqüente manutenção das funções da membrana celular, mas isto ainda esta sendo estudado.

Para exemplificar, podemos citar o resultado de vários estudos que mostraram que a inibição da síntese de colesterol, nos músculos, com certos agentes externos, pode resultar em danos nas células musculares e conseqüente diminuição de suas funções ou até mesmo à morte de alguma destas (PIERNO 1995, BASTIAANSE 1997 e MUTOH 1999 citados por NISSEN et al, 2000).

FIGURA 2 – Esquema simplificado da desaminação do aminoácido leucina. O HMB forma o HMG-CoA, importante para as funções da membrana celular muscular



Em um estudo feito com porcos (VAN KOEVERING et al, 1992, citado por NISSEN, 1997), foi mostrado que o pico de concentração do HMB plasmático é de 1 hora após a ingestão, e que, a meia-vida do HMB no organismo destes animais é por volta de 2 horas. Oito horas após a ingestão os níveis tendem a voltar ao basal, que é igual para porcos e humanos (2 a 5 μ M).

No mesmo estudo acima citado, foi mostrado que em porcos e ovelhas um terço do HMB é excretado pela urina. Em humanos, a metade do HMB ingerido é excretada na urina. Já no estudo de Vukovich (2001), foi encontrado que a excreção do HMB na urina de humanos é de somente 14 a 27%, dependendo da dose e, se foi ou não adicionada com glicose. O estudo mostrou que o consumo de glicose junto ao HMB resulta numa redução significativa nos níveis plasmáticos do HMB e num maior tempo para alcançar o pico plasmático desta concentração, ou seja, numa meia-vida de ação maior do suplemento.

2.6 PERFIL LIPÍDICO E SUPLEMENTAÇÃO COM HMB

O intenso interesse científico sobre o colesterol deriva, em grande parte, do fato de que a formação de ateroma é acompanhada por deposição de lipídios do plasma, primariamente o colesterol, na camada mais íntima da parede arterial. O crescimento do ateroma pode levar ao entupimento de uma artéria coronariana resultando em infarto do miocárdio.

A hipercolesterolemia é fator primário para o desenvolvimento das doenças coronarianas, e isto tem estimulado as pesquisas no desenvolvimento de agentes para a prevenção e tratamento da aterosclerose, baseando-se na atenuação dos níveis de colesterol plasmático (LDL-C).

O colesterol é o mais conhecido dos lipídios derivados, sendo um esteroide encontrado somente nos tecidos animais. Embora não contenha nenhum ácido graxo, o colesterol apresenta características físicas e químicas dos lipídios. Está presente em todas as células do organismo sendo constituinte das membranas celulares e um precursor essencial para a síntese de vitamina D e de hormônios esteróides, como o estrogênio, a testosterona e o cortisol. O colesterol é também necessário para a síntese da bile, que desempenha um papel importante na emulsificação de gorduras no trato digestivo (MAUGHAN, 2000).

As lipoproteínas são lipídios compostos formados, sobretudo, no fígado e na circulação, e são uma combinação de triacilgliceróis, fosfolipídios, colesterol e proteínas. As lipoproteínas constituem a principal forma de transporte de gordura no sangue. Como os triacilgliceróis são quase insolúveis em água, a presença de um revestimento de proteínas é necessária para aumentar a solubilidade do lipídio que eles envolvem. As lipoproteínas plasmáticas são classificadas segundo sua densidade. As *lipoproteínas de alta densidade* (HDL) contêm a quantidade mínima de colesterol e parecem atuar no transporte de colesterol das paredes das artérias para a conversão em bile no fígado. Posteriormente a bile é secretada no intestino e excretada nas fezes. As *lipoproteínas de baixa densidade* (LDL) normalmente transportam 60-80% do colesterol plasmático total e possuem maior afinidade pela parede arterial. A

deposição de colesterol na parede arterial, em última instância, causa a proliferação do músculo liso adjacente, atrai fibroblastos e promove a coagulação. Estas alterações lesam a parede arterial e provocam o seu estreitamento, o que, no caso das artérias coronárias que suprem o músculo cardíaco, pode causar um suprimento inadequado de oxigênio, resultando num infarto, ou seja, morte e necrose de uma parte do músculo cardíaco, que pode levar à morte (MAUGHAN, 2000). Há também as *lipoproteínas de muito baixa densidade* (VLDL), que vem sendo cada mais implicada como um fator de risco de doença coronariana (WILMORE et al, 2001).

Segundo Slater et al (1987), aproximadamente dois terços do colesterol corporal total, em indivíduos numa dieta tipicamente do oeste americano, é de origem endógena. Um meio mais potencial para diminuir os níveis de colesterol plasmático, é controlar a colesterogênese, inibindo a biossíntese numa etapa anterior no processo. Uma maior taxa de limitação neste processo está a nível microsomial da enzima 3-hidroxi-3-metilglutaril-coenzima reductase (HMG-CoA reductase), a qual catalisa a conversão do HMG-CoA para ácido mevalônico e tem sido considerado ser o alvo principal para intervenção farmacológica por várias décadas.

No estudo de Nissen et al (2000) foram encontradas diminuições estatisticamente significativas, em sujeitos com colesterol total alto (sujeito com risco cardíaco), no colesterol total (5,8%, $p < 0,03$), no colesterol LDL (7,3%, $p < 0,01$) e também na pressão arterial sistólica (4,4 mmHg, $p < 0,05$), mostrando que o HMB ajuda na diminuição dos fatores de risco cardíaco.

2.7 RESPOSTA DO LACTATO AO EXERCÍCIO FÍSICO

A ação do HMB em diminuir a degradação protéica é evidenciada pela diminuição da creatina quinase extravasada das células musculares e do lactato sanguíneo presente depois do exercício (KNITTER et al, 2000). Um estudo com ciclistas mostrou que a suplementação com HMB é efetiva no retardamento do início do acúmulo de lactato sanguíneo, ou seja, sobre o limiar de lactato, durante exercício extenuante (VUKOVICH et al, 1997).

A resposta do lactato sanguíneo ao exercício tem sido usada como predição da performance de endurance e exercícios máximos, para exercício submáximos e como importante ferramenta para a prescrição de exercícios. Uma variedade de termos tem sido usada para descrever a resposta ao exercício do lactato sanguíneo como, limiar de lactato, *steady state* máximo, limiar anaeróbico, limiar aeróbico, limiar anaeróbico individual, ponto de quebra do lactato e, início do acúmulo de lactato sanguíneo (WELTMAN, 1995). A definição para cada um destes, de acordo com Weltman (1995), é a seguinte:

Blood Lactate Concentration - qualquer concentração de lactato sanguíneo dada para descrever uma resposta ao exercício do lactato no sangue.

Limiar de Lactato:

- *Definido como o ponto de quebra:* Determinado como o ponto onde o mais alto VO₂ pode ser atingido, durante exercício progressivo, antes da elevação do lactato sanguíneo. Isto ocorre exatamente antes da curva do lactato sanguíneo aumentar abruptamente quando esta é plotada com a curva do VO₂, depois de testes onde o sujeito realiza o exercício com incrementos progressivos da intensidade. Este fenômeno também é chamado de ponto de quebra do lactato, início do acúmulo do lactato no plasma, limiar anaeróbico ou limiar aeróbico.
- *Definido como $\Delta 1 \text{ mM}$* – durante exercício com incrementos de intensidade, é definido como uma concentração de lactato no sangue em 1mM acima do nível basal.
- *Definido como 2.5 mM de concentração do lactato sanguíneo* – é o momento da concentração de 2.5mM de lactato no sangue durante exercício com intensidade progressiva.

Onset of Blood Lactate Accumulation (OBLA) ou início do acúmulo do lactato sanguíneo – é o momento em que o lactato está a 4.0 mM de concentração no sangue durante exercício progressivo e também definido por alguns autores de Limiar Anaeróbico.

Limiar Anaeróbico Individual (IAT) – é o mais alto VO₂ que pode ser mantido durante maior tempo sem aumentos do acúmulo de lactato sanguíneo. É um conceito que foi desenvolvido na Alemanha porque cada indivíduo tem uma habilidade individual de manter o *steady state* da resposta do lactato ao exercício e isto não deve ser avaliado com números fixos (2.5mM, 4 mM, etc), e por isto poderia ser considerado o melhor modo de avaliar a performance anaeróbico de um indivíduo. IAT também é chamado de *steady state* máximo (MSS) por alguns pesquisadores.

Como dito em capítulo anterior, o sistema glicolítico de energia é que produz ácido láctico e, o acúmulo deste nos músculos e líquidos corporais depende da velocidade de produção do ácido láctico e da velocidade de remoção do lactato sanguíneo.

3.0 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 ANIMAIS EXPERIMENTAIS

Neste experimento utilizou-se 25 ratos machos *Wistar*, com idade de 60 a 90 dias, com peso médio de 200g, do Biotério do Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná.

Foram mantidos em ambiente claro/escuro (12/12h) com temperatura controlada (23°C), alimentação e água *ad libitum*. A ração utilizada era de forma palitizada, da marca *Nuvital*. Os animais eram mantidos em gaiolas coletivas com no máximo 5 ratos cada.

Os animais foram separados ao acaso em quatro grupos experimentais conforme mostra a tabela 1.

TABELA 1 – “Design” de Pesquisa

Grupos	Pré-testes	Tratamento	Pós-testes
Experimental 1 - GES	O1	Exercitados suplementados	O1, O2 e O3
Experimental 2 - GE	O1	Exercitados não suplementados	O1, O2 e O3
Experimental 3 - GS	O1	Suplementados sedentários	O1 e O3

GES= Grupo exercitado suplementado

GE= Grupo exercitado não suplementado

GS= Grupo suplementado sedentário

O1= Lactacidemia após teste aeróbico

O2= Lactacidemia após teste anaeróbico

O3= Análise plasmática de Colesterol Total, HDL, LDL, VLDL e Glicose

3.2 INSTRUMENTOS E PROCEDIMENTOS

3.2.1 Suplementação

A suplementação do β -hidroxi- β -metilbutirato foi administrada na forma de cálcio-HMB em pó na dosagem de 100mg/kg corporal do rato por meio de gavagem.

Os animais foram suplementados todos os dias, durante 32 dias. Nos dias de treinamento, a suplementação foi realizada logo após a sessão.

A suplementação, assim como todos os procedimentos de manipulação diários dos ratos eram feitos no período da manhã.

3.2.2 Programa de Treinamento

O treinamento teve a duração de 30 dias com frequência semanal de 5 dias. A quinta-feira e o domingo eram reservados para descanso. A estrutura utilizada para os exercícios foi o sistema de natação proposto por Vieira et al (1988) sendo um recipiente (cano de PVC) central para o bombeamento e aquecimento de 10 tanques de natação individualizados, constituídos de dois tubos de PVC, um por dentro do outro, sendo o maior de diâmetro de 25cm e 48cm de altura e o mais estreito tendo diâmetro de 24cm e 48cm de altura. O tubo de dentro tem o fundo vazado para puxar os animais para fora da água para os devidos períodos de descanso durante uma sessão de treinamento (FIGURA 3).

FIGURA 3 – Sistema de natação: estrutura utilizada para o treinamento, onde o tubo central bombeia e aquece a água para os dez tubos laterais



Em cada tanque com água numa profundidade de 35cm, a 32 °C, os animais foram submetidos a um programa de treinamento anaeróbico que consistia de saltos suportando carga equivalente de 20% a 50% (TABELA 2) do peso corporal presa ao tórax, (FIGURA 4). Estas cargas foram feitas de um colete de chumbo envolto em esparadrapo e tiras elásticas para fixar junto ao corpo do animal (FIGURA 5).

A sessão diária consistiu de 10 repetições de 30 segundos onde os animais realizavam os saltos, com intervalos de 1 minuto (TABELA 3).

TABELA 2 – Progressão da carga durante o programa de treinamento. Carga em % do peso corporal

Sessões de Treinamento	Carga	Sessões de Treinamento	Carga
1	20%	13	45%
2	20%	14	45%
3	20%	15	45%
4	25%	16	45%
5	25%	17	50%
6	30%	18	50%
7	30%	19	50%
8	35%	20	50%
9	35%	21	50%
10	35%	22	50%
11	40%		
12	40%		

TABELA 3 – Programa Semanal do Treinamento

<i>Dias</i>	<i>Treinamento</i>
2 ^a	10 x 30" (1')*
3 ^a	10 x 30" (1')*
4 ^a	10 x 30" (1')*
5 ^a	Descanso
6 ^a	10 x 30" (1')*
Sáb	10 x 30" (1')*
Dom	Descanso

* intervalo de 1min; com carga equivalente (TABELA 2).

FIGURA 4 – Treinamento de saltos em tubos individuais. As cordas puxam o tubo mais estreito para fora da água do tubo maior para o descanso entre as repetições



FIGURA 5 – Colete de sobrecarga



3.2.3 Peso Corporal

Os animais eram pesados duas vezes por semana, nos dias de descanso, para que se pudesse adequar as cargas e a suplementação de acordo com a variação do peso corporal e também observar possíveis alterações do treinamento e da suplementação quanto ao peso dos animais, fazendo-se as comparações entre os grupos.

3.2.4 Concentração de Lactato Sanguíneo

Os animais passaram por pré e pós-teste aeróbico onde todos os animais (grupos GES, GE, GS) foram colocados nos tubos para nadar durante 30 minutos, e de um pós-teste anaeróbico feito somente com os animais que treinaram e se adaptaram ao treinamento com carga (grupos GES e GE), onde suportando carga de 50% do peso corporal presa ao tórax, os animais realizaram 10 repetições de 30 segundos de saltos num recipiente com água, com intervalos de 1 minuto. Os testes foram realizados em dias diferentes e ambos tiveram posterior análise sanguínea, com a retirada de 25 μ L de sangue da calda do animal para determinação instantânea da concentração de lactato através do Lactímetro *Accusport* e utilização das fitas reagentes *BM-Lactate*.

3.2.5 Sacrifício dos animais e análises bioquímicas

Para o sacrifício os animais foram mantidos em repouso por 48 horas em relação à última sessão de treinamento, sendo mantida a suplementação. O sacrifício dos animais foi feito por decapitação com guilhotina recolhendo-se uma quantidade aproximada de 4 ml de sangue para a análise plasmática das variáveis Glicemia, Triglicérides, Colesterol Total, HDL, LDL e VLDL, que foram quantificadas pelo método de colorimetria utilizando-se os reagentes da marca *Labtest*. Foram guardadas em nitrogênio líquido, para uma futura análise, amostras do fígado e do músculo gastrocnêmio dos ratos.

3.3 PLANEJAMENTO DE PESQUISA E TRATAMENTO ESTATÍSTICO

Estudo de caráter experimental, tendo como variáveis independentes a suplementação com HMB e o treinamento de característica anaeróbia e, como variáveis dependentes o lactato plasmático após teste aeróbico (pré-pós), lactato plasmático após teste anaeróbico (pós-teste); o colesterol total, HDL, LDL, VLDL, triglicérides, glicemia em repouso; e peso corporal.

Para o tratamento estatístico foi utilizado o programa STATISTICA para Windows, versão 5.0, da Statsoft. Foram adotados os recursos da estatística descritiva para a demonstração dos dados. E, nas comparações entre pré e pós-teste aeróbico e na localização das diferenças entre os pesos corporais dos diferentes grupos entre medidas semanais utilizou-se a ANOVA *Two Way*, sendo usado o teste *post-hoc* de TUKEY, sendo considerado, para interações significativas, o nível de $p < 0,05$.

4.0 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O presente estudo iniciou-se com 25 animais, sendo 10 para o grupo exercitado suplementado (GES), 10 para o grupo exercitado não suplementado (GE) e 5 para o grupo suplementado sem exercício (GS). Porém no decorrer do estudo foram perdidos quatro animais no momento da suplementação por gavagem, que é um método com riscos de perfuração de órgãos, levando à morte do animal, e um por hemorragia interna, por queda do tanque de treinamento no momento de intervalo durante uma sessão. Resultou então, ao final do experimento, um total de 20 animais.

4.1 PESO CORPORAL

A TABELA 4 mostra os valores médios e desvio padrão de cada grupo para cada pesagem.

TABELA 4 – Valores médios e desvio padrão das medidas de peso corporal de cada grupo

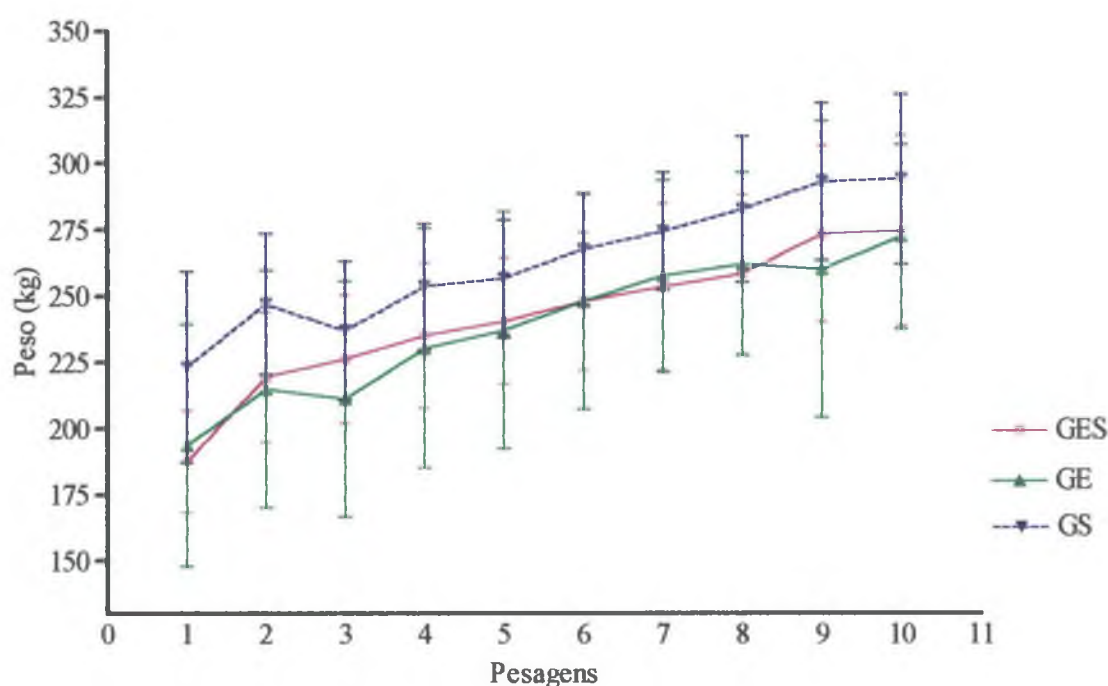
Semanas	Pesagens	GES		GE		GS	
		Média	DP	Média	DP	Média	DP
1 ^a	1	187,62	19,31 ^{abc}	193,62	45,82 ^{def}	223,25	35,95
	2	219,37	24,47	214,87	44,83	247,00	26,50
2 ^a	3	226,25	24,22	211,12	44,44 ^b	237,00	26,17
	4	235,12	27,29	230,25	45,13	253,50	23,67
3 ^a	5	240,50	23,80	237,12	44,60	256,50	22,22
	6	247,87	25,99	247,87	40,57	267,50	21,17
4 ^a	7	253,37	31,49 ^a	257,37	36,23 ^b	274,25	22,07 ^{cf}
	8	258,12	30,03 ^a	261,87	34,44 ^{bc}	282,50	27,45 ^{cf}
5 ^a	9	273,37	33,29 ^{ad}	260,00	55,92 ^{bc}	293,00	29,70 ^{cf}
	10	274,62	35,82 ^{ad}	272,25	34,75 ^{bc}	294,00	32,14 ^{cf}

Letras idênticas representam diferenças estatisticamente significativas entre os pesos dos animais ($p < 0,05$). GES= grupo exercitado suplementado; GE= grupo exercitado não suplementado; GS= grupo suplementado sedentário

Observando a TABELA 4, podemos ver que, nas comparações entre as pesagens do grupo exercitado suplementado (GES), houve diferença estatisticamente

significativa entre a pesagem 1 e as de número 7, 8, 9 e 10, ou seja, o peso corporal dos animais GES apresentou um aumento significativo a partir da 4ª semana. Para o grupo exercitado sem suplementação (GE) os valores de diferenças significativas foram entre a pesagem 1 e as de número 8, 9 e 10, ou seja, os animais passaram a ter aumento expressivo de peso corporal ao final da 4ª semana do período experimental. Para o grupo GS, suplementado sem exercício, não constatou-se diferenças entre as pesagens iniciais e conseqüentes.

GRÁFICO 1 – Média e Desvio Padrão da evolução do peso corporal dos grupos para cada uma das medidas



4.2 ANÁLISES BIOQUÍMICAS

Os resultados das análises das concentrações plasmáticas de HDL-col mostram diferenças estatisticamente significativas entre os três grupos experimentais ($p=0,006$). Observando na TABELA 5 a média da concentração plasmática do HDL de $40,78 \pm 4,48$ mg/dl do grupo exercitado suplementado (GES) foi significativamente

maior que a média de $32,79 \pm 2,32$ mg/dl do grupo exercitado não suplementado (GE), ($p=0,01$). E, também foi maior que a média de $32,38 \pm 8,35$ mg/dl do grupo suplementado sedentário (GS), ($p=0,02$).

TABELA 5 – Valores médios e desvio padrão das concentrações plasmáticas das variáveis analisadas

Variáveis (mg/dl)	GES	GE	GS
Colesterol Total	$145,50 \pm 24,76$	$159,35 \pm 23,73$	$144,44 \pm 45,28$
HDL	$40,78 \pm 4,48^{ab}$	$32,79 \pm 2,32^a$	$32,38 \pm 8,35^b$
LDL	$73,89 \pm 21,24$	$107,03 \pm 23,86$	$86,05 \pm 43,08$
VLDL	$30,83 \pm 19,13$	$19,53 \pm 9,90$	$26,01 \pm 9,45$
Triglicerídeos	$154,15 \pm 95,65$	$97,65 \pm 49,48$	$130,04 \pm 47,27$
Glicose	$132,90 \pm 14,60$	$139,06 \pm 11,47$	$134,72 \pm 20,63$

Letras idênticas representam diferenças estatisticamente significativas entre os valores. Para “a”, $p=0,01$ e para “b”, $p=0,02$.

Não se constatou diferenças estatisticamente significativas entre os animais GE e GS, porém o GRÁFICO 2 mostra que os valores do HDL-col dos animais GE têm a tendência de serem maiores que os do grupo GS. O gráfico ainda mostra a diferença entre o grupo GES e os dois outros grupos de animais, onde pode-se verificar que a suplementação com HMB e o treinamento anaeróbico de 30 dias contribuíram para o aumento dos níveis de HDL.

Não foram encontradas diferenças significativas para as variáveis: LDL, VLDL, colesterol total, triglicerídeos e glicemia. Porém pode-se observar no GRÁFICO 3, o valor menor de LDL do grupo GES se comparado ao grupo GE, mas não estatisticamente significativo ($p=0,06$), e também do grupo GS em relação ao grupo GE ($p=0,43$), também não significativo.

GRÁFICO 2 – Concentrações plasmáticas de HDL-col (mg/dl) individuais e média por grupo

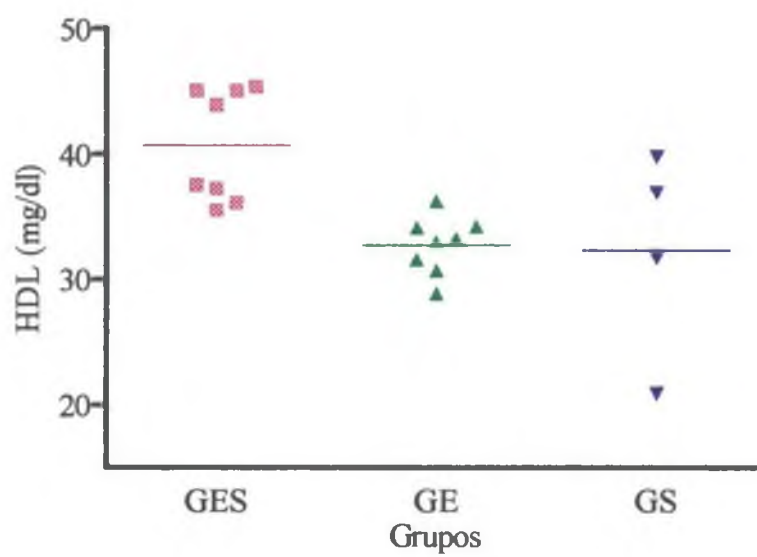


GRÁFICO 3 – Concentrações plasmáticas de LDL-col (mg/dl) individuais e média por grupo

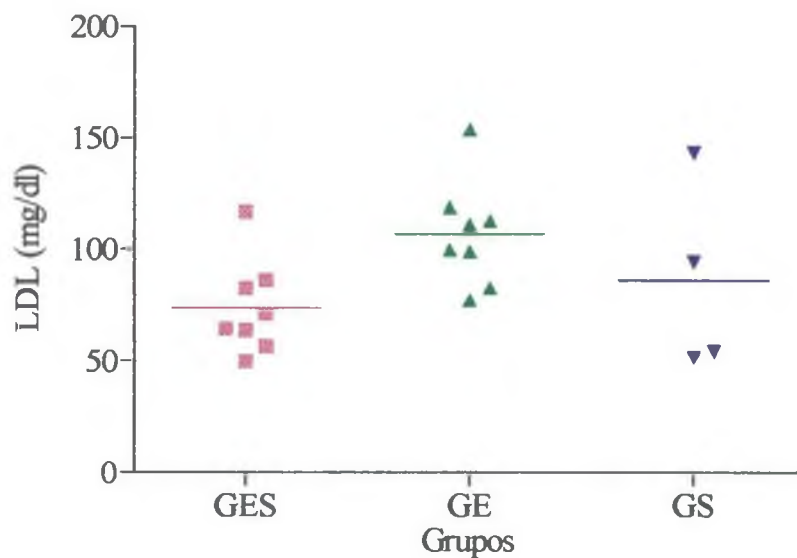
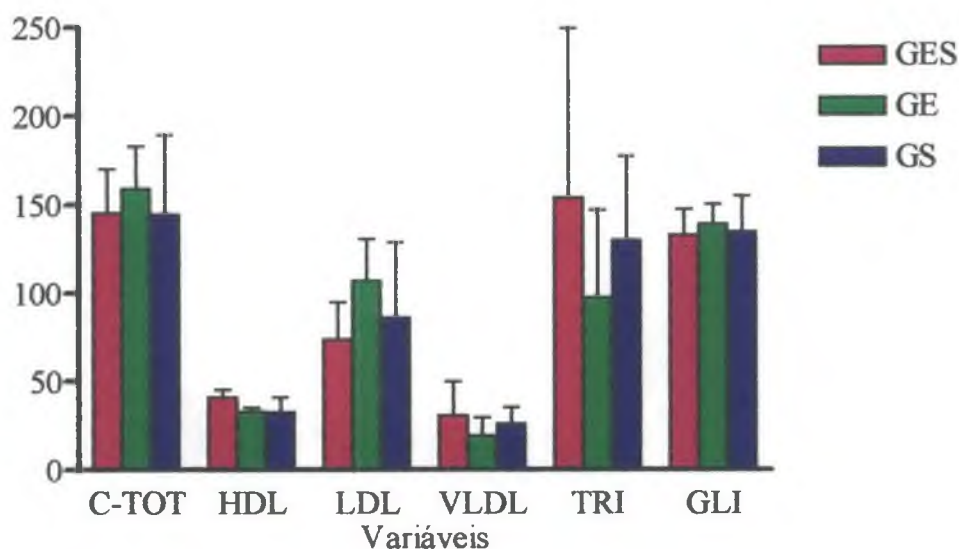


GRÁFICO 4 – Média e desvio padrão das concentrações plasmáticas das variáveis bioquímicas analisadas: colesterol total (C-TOT), HDL, LDL, VLDL, triglicerídeos (TRI) e glicose (GLI)



Isso mostra uma tendência dos valores de LDL serem menores nos grupos suplementados com HMB do que o grupo não suplementado, sugerindo que, como em outros estudos (NISSEN, 1994 e NISSEN, 1997), o HMB diminuiu os níveis de LDL, tanto em animais quanto em humanos. Indicações bioquímicas e fisiológicas tem mostrado que o HMB age sobre o metabolismo do colesterol, via HMG-CoA, porém não foram totalmente elucidadas.

Resultados similares aos desta pesquisa, quanto ao perfil lipídico, foram encontrados por Gallagher et al (2000), onde não foram detectados efeitos significativos da suplementação do HMB, associada ao treinamento de força em humanos, no colesterol total, LDL, VLDL e triglicerídeos.

Resultados contrários aos desta pesquisa quanto à remoção dos triglicerídeos foram encontrados por Dias (2003), sendo que o protocolo de treinamento utilizados em ratos era o mesmo deste estudo, com características anaeróbicas (força) e período de 6 semanas, contribuiu para a diminuição dos triglicerídeos circulantes.

Neste estudo o tempo reduzido (30 dias) de suplementação e exercício podem ter interferido nestes resultados.

Segundo Maughan (2000), o qual comenta sobre as adaptações ao treinamento de força e/ou velocidade, existem amplos estudos de seção cruzada que indicam uma relação inversa entre o treinamento cardiorrespiratório e a concentração sérica ou plasmática, em jejum, dos triglicerídeos, mas não se constatou ainda uma relação aparente com a força muscular.

Levando isto em consideração, lembra-se do princípio da especificidade, onde as alterações fisiológicas resultantes do treinamento são altamente específicas ao tipo de treinamento (WILMORE, 2001). Assim o treinamento de força, ou anaeróbico intenso, estará requisitando da musculatura ativa, principalmente as fibras do tipo IIA e IIB, isto é, liberação de energia a partir do sistema ATP-PC e glicolítico. Como consequência destes sistemas anaeróbicos de energia, ocorrerá um aumento das enzimas glicolíticas e do sistema ATP-PC, e não das enzimas oxidativas, estas que só terão aumentos com o treinamento de endurance. As reservas de energia lipídicas necessitam de enzimas oxidativas para serem utilizadas, assim pode-se deduzir porque o perfil lipídico, principalmente triglicerídeos e VLDL, não foram alterados pelo treinamento anaeróbico, comparando-se os grupos treinados (GES e GE) e o sedentário (GS).

Os triacilgliceróis sintetizados no fígado podem ser combinados ao colesterol, aos fosfolípidios e às proteínas para formar as lipoproteínas (HDL e VLDL), as quais são liberadas na circulação e tornam-se disponíveis para a captação pelos tecidos periféricos. Os triacilgliceróis também são armazenados em pequenas quantidades entre as fibras musculares, principalmente entre as fibras do tipo I, que têm capacidade oxidativa e conseqüente maior lipólise intramuscular (MAUGHAN, 2000). Pode-se inferir que, como a especificidade do treinamento anaeróbico determina a utilização em maioria das fibras glicolíticas, se faz menor a utilização das reservas lipídicas intramusculares, acarretando em maiores concentrações plasmáticas dos triacilgliceróis, já que estas não foram requisitadas para o reabastecimento muscular.

Fazendo-se a correlação entre as variáveis somente dos valores do grupo GES (exercitado suplementado), a relação é inversamente proporcional entre a glicemia e as

variáveis triglicérides e VLDL ($r=-0,71$). Observando o GRÁFICO 4, vê-se esta relação.

4.3 CONCENTRAÇÃO DE LACTATO SANGUÍNEO

De acordo com os objetivos desta pesquisa, de investigar os efeitos da suplementação com HMB, associada ao treinamento anaeróbico intenso, o teste anaeróbico e a análise da concentração de lactato sanguíneo após este, são de grande importância.

O teste da capacidade anaeróbica foi realizado, somente com os animais dos grupos treinados, ao final do período de 30 dias de treinamento, sendo que os animais, suportando carga de 50% do peso corporal atada ao tórax, realizaram 10 repetições de 30 segundos de saltos num recipiente com água, com intervalos de 1 minuto. Após a sessão de treinamento, foram obtidos 25 μ L de sangue da calda de cada rato, previamente anestesiados em éter, para a determinação da laticidemia em lactímetro.

A TABELA 6 mostra a média e desvio padrão dos valores obtidos, por grupo. Houve diferenças significativas entre os grupos, onde a média do grupo GES, de 10,72 \pm 1,15 mmol/l, é significativamente menor que a média do grupo GE, de 14,17 \pm 1,54 mmol/l, ($p=0,0003$). O GRÁFICO 5 nos mostra esta relação em valores individuais e médios de cada grupo.

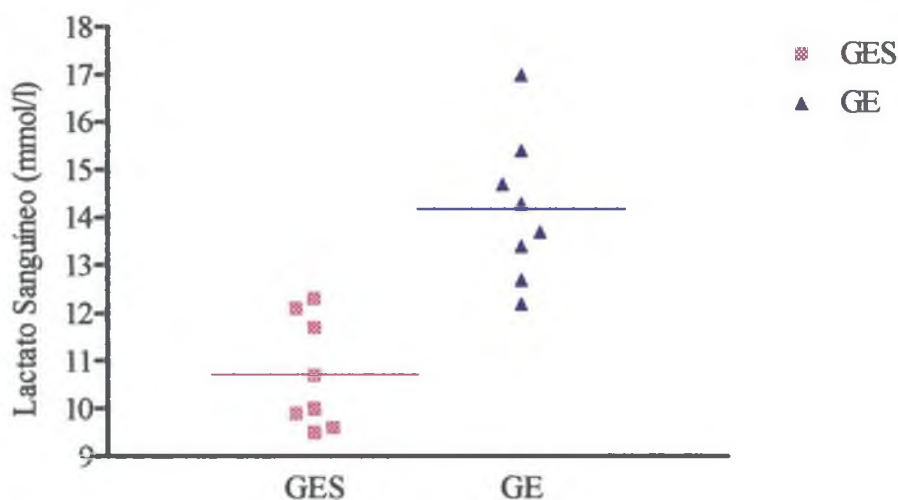
TABELA 6 – Valores de lactato sanguíneo sérico após teste anaeróbico com carga de 50% do peso corporal

GRUPO	GES	GE
Lactato sanguíneo (mmol/l)	10,72 \pm 1,15*	14,17 \pm 1,54

Valores expressos em Média \pm Desvio Padrão

*Diferença significativa ($p=0,0003$).

GRÁFICO 5 – Concentrações do lactato sanguíneo individuais e média dos grupos treinados, após teste anaeróbico



Este resultado mostra a ação do HMB quanto à diminuição das concentrações de lactato sanguíneo sérico para o exercício anaeróbico, após período de 30 dias de treinamento anaeróbico intenso. A ação da suplementação do HMB na melhoria da capacidade anaeróbica encontrada neste estudo se iguala aos achados de algumas pesquisas (GALLAGHER, 2000a; NISSEN, 1996; NISSEN, 1997; NISSEN, 2002). A diminuição da ação da enzima creatina quinase e dos danos e proteólise muscular foram os resultados encontrados, dentre outras pesquisas, por Gallagher (2000a) e Nissen (1996), a partir da suplementação com HMB e treinamento com pesos em humanos. Uma menor atividade da enzima lactato desidrogenase (LDH) em humanos, após período de treinamento com pesos, foi observada por Nissen (1997), numa revisão de várias pesquisas com a suplementação com HMB. Em modelos animais, o estudo *in vitro* de Ostaszewski et al (2000) mostra a ação do HMB na diminuição da proteólise muscular nas fibras glicolíticas em 29% e, de 5% nas fibras oxidativas, em amostras teciduais de ratos. Isto mostra que os efeitos do HMB tendem a ser maiores na musculatura com capacidades de força e velocidade que nos músculos de ação resistente e lenta. Não foi encontrado nenhum estudo que mostra a ação do HMB em ratos submetidos a treinamento anaeróbico ou de força.

Quanto aos níveis médios de lactato sanguíneo, encontrados nesta pesquisa, (10,72 e 14,17 mmol/l), após o teste anaeróbico, observa-se que os valores subiram muito acima do limiar de lactato proposto por Gobatto et al (2001), que utilizando um protocolo aeróbico de natação para ratos, com cargas de 5 a 10% do peso corporal, mostra que a curva de lactato se inclina mais intensamente a partir de valores entre 4,5 a 5,5 mmol/l, acreditando ser, neste nível de concentração, a classificação de limiar de lactato para o treinamento de natação de característica aeróbica, para ratos. Os valores de lactato encontrados neste experimento caracterizam o tipo de treinamento como sendo essencialmente anaeróbico. Porém, não é completa a elucidação da caracterização da intensidade e de níveis de lactato sanguíneo para modelos animais e, assim como em humanos, a intensidade do exercício e o tipo de ergômetro usado fazem surgir diferentes valores de limiar anaeróbico para ratos.

Além do teste anaeróbico, realizou-se também um teste aeróbico antes de iniciar a suplementação e treinamento (pré-teste) e no final do período experimental (pós-teste). O teste consistia de natação de 30 minutos, sem sobrecarga. Após a sessão de treinamento, eram obtidos 25 μ L de sangue da calda de cada rato, previamente anestesiados em éter, para a determinação da concentração do lactato sérico em lactímetro. Destes testes, participaram também os animais do grupo sedentário suplementado (GS).

A TABELA 7 mostra que não há diferenças estatisticamente significativas entre os valores dos grupos de lactato sérico entre pré e pós-teste aeróbico ($p > 0,05$). Mas se observarmos os valores médios pré-teste dos três grupos, estes estão próximos, com o valor do grupo sedentário suplementado (GS) um pouco maior, já que este tinha a média de peso corporal inicial maior também. E ao comparar os valores médios de pós-teste, a média do grupo exercitado não suplementado (GE) se igualou à do grupo suplementado sedentário (GS). Estes resultados demonstram uma tendência de que, para um mesmo tipo e intensidade de exercício, o grupo treinado suplementado com HMB teria melhorado a capacidade de resistência, com menores concentrações de lactato sanguíneo, enquanto que o grupo treinado não suplementado teve seu

desempenho no teste aeróbico igualado ao do grupo sedentário. O GRÁFICO 6 demonstra estes valores.

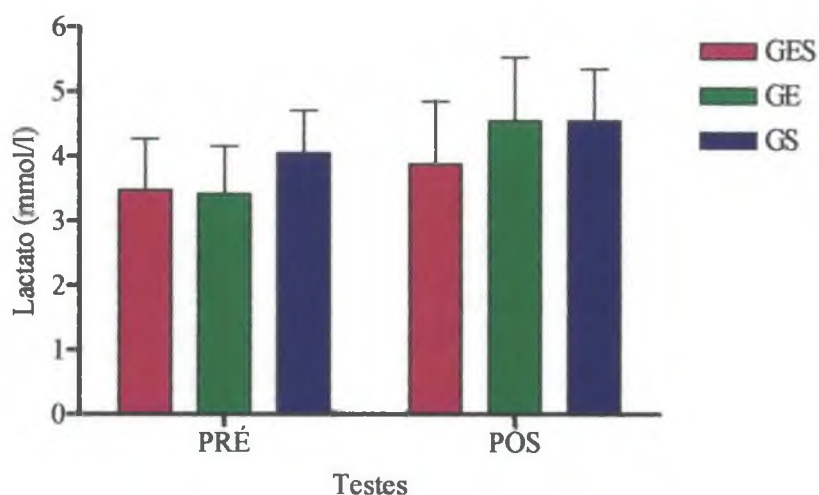
TABELA 7 – Concentrações de lactato sanguíneo (mmol/l) dos grupos, após teste aeróbico, pré e pós-suplementação

TESTES	GES (n=8)	GE (n=8)	GS (n=4)
Pré	3,48±0,79	3,42±0,74	4,05±0,66
Pós	3,88±0,97	4,55±0,98	4,55±0,80

Valores expressos em Média±Desvio Padrão.

Pela TABELA 7 pode-se ainda observar que o treinamento anaeróbico e a suplementação com HMB não trazem melhorias para a capacidade de resistência ao exercício prolongado, pois os níveis de lactato sanguíneo não apresentam diferenças significativas, o que já era esperado devido a característica do treinamento ser especificamente anaeróbica.

GRÁFICO 6 – Comparações entre valores de média e desvio padrão da concentração de lactato após teste aeróbico dos grupos, entre os testes pré e pós-suplementação



Assim, o motivo pelo qual não houve melhoria da capacidade de endurance é compreendido pelo princípio da especificidade de treinamento. O protocolo de

treinamento utilizado nesta pesquisa tem como característica o requerimento das capacidades anaeróbicas dos animais (força e velocidade durante curtos espaços de tempo), principalmente dos membros inferiores. Por isso que, ao submetê-los a uma atividade durante 30 minutos, sem intervalos, mesmo sem sobrecarga, exigindo mais da capacidade cardiorrespiratória e ainda, da musculatura de membros superiores, estas que não estavam sendo requisitados durante o período de treinamento de saltos, o lactato sanguíneo não respondeu significativamente, se comparado ao pré-teste.

As adaptações musculares em resposta ao treinamento são específicas aos músculos utilizados na atividade, onde os músculos não utilizados não sofrem o mesmo processo (MAUGHAN, 2000). Assim, um corredor de 100 metros não terá bons resultados, nem fisiológicos nem de desempenho, ao realizar uma maratona.

4.4 DESEMPENHO DURANTE O TREINAMENTO

Antes de iniciar o treinamento os animais realizaram sessões aeróbicas de 30 minutos, sem sobrecarga, para a devida adaptação ao ambiente de treinamento. O treinamento ao qual os animais foram submetidos neste estudo foi de uma sessão diária de 10 repetições de 30 segundo de saltos, com intervalo de 1 minuto. A sobrecarga aplicada evoluiu de acordo com a TABELA 2. Segundo Gobatto et al (2001), sobrecargas acima de 6% do peso corporal são consideradas supralimíares. Cargas acima de 15% são consideradas supramáximas. Assim a sobrecarga alcançada neste estudo de 50%, tinha a intenção de levar os animais a realizarem saltos em sessões curtas, com força máxima.

Durante as sessões diárias de treinamento, observou-se a performance dos animais e contou-se o número de saltos que os animais realizavam até a superfície da água, a cada uma das dez repetições.

A TABELA 8 mostra a quantidade de saltos realizada, em média, por repetição. No início do treinamento, nas sessões com a carga de 20%, cada animal do grupo GES realizou em média $2,95 \pm 2,08$ saltos por repetição (sendo 10x30" para cada sessão). Das 10 repetições a que eram submetidos, os animais se mantinham no fundo

do tanque por várias destas repetições, pois estavam fadigados e não tinham mais força para saltar até a superfície. Os ratos se mostravam exaustos ao termino das 10 repetições. Com o decorrer do treinamento e da evolução das cargas, os animais se adaptaram ao tipo de treinamento, realizando mais saltos por repetição, com visível menor desgaste físico, mesmo com cargas cada vez mais altas.

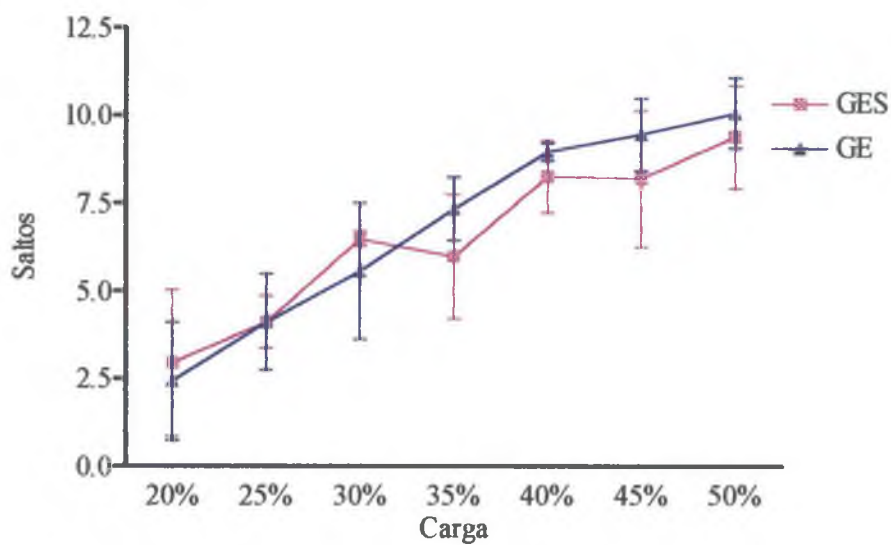
TABELA 8 – Média de saltos realizados por repetição (sendo dez a cada sessão), e número de sessões para cada carga (% do peso corporal), durante o período de treinamento (Média±DP)

Carga	Nº Sessões	Saltos	
		GES	GE
20%	3	2,95±2,08	2,43±1,68
25%	2	4,12±0,74	4,12±1,38
30%	2	6,50±0,21	5,57±1,94
35%	3	6,00±1,77	7,4±0,90
40%	2	8,27±1,02	8,97±0,24
45%	4	8,22±1,94	9,47±1,03
50%	6	9,41±1,46	10,09±1,00

O GRÁFICO 7 mostra a evolução da média de saltos realizada para cada grupo (GES e GE), para cada carga aplicada. Com a adaptação dos animais ao treinamento, a quantidade de saltos foi progressivamente maior, mesmo com o aumento da carga.

Não houve diferenças significativas entre os grupos para a quantidade de saltos realizada. Os animais suplementados e os não suplementados com HMB realizaram mesma quantidade de exercício, porém, como foi comprovado com o teste anaeróbico, o acúmulo de lactato sanguíneo foi bem menor para o grupo suplementado que para o grupo não suplementado, ao término de uma sessão de treinamento, com a mesma intensidade.

GRÁFICO 7 – Evolução das médias de saltos realizados por carga aplicada aos animais (% do peso corporal), durante o período de treinamento (Média \pm DP).



5.0 CONCLUSÕES

De acordo com os resultados encontrados com a realização desta pesquisa, a suplementação com HMB na dosagem de 100mg/kg/dia em ratos, associada ao treinamento anaeróbico, durante 30 dias, é capaz de reduzir significativamente a concentração de lactato sanguíneo sérico conseqüente do exercício anaeróbico intenso. A diferença encontrada de $p=0,0003$ entre o grupo exercitado suplementado (GES) e o grupo exercitado não suplementado (GE) mostra que, a suplementação com HMB é eficaz na diminuição da concentração do lactato sanguíneo, durante exercício anaeróbico intenso, mesmo em período reduzido de treinamento (30 dias).

Quanto à capacidade de resistência muscular e endurance cardiorrespiratória, a suplementação com HMB mais o treinamento anaeróbico proposto, não responderam significativamente sobre estas variáveis. Após o pós-teste aeróbico de 30 minutos de natação, os níveis de concentração de lactato de exercitados (GES e GE) e sedentários (GS) foram os mesmos. Atribui-se este resultado ao princípio da especificidade do treinamento, assim, se o treinamento fosse de características aeróbicas, associando-se a suplementação com HMB, os resultados finais poderiam ser favorecidos em relação a estas capacidades e não às de características anaeróbicas, como as encontradas neste estudo. Por isto sugere-se um maior número de experimentos em diferentes propostas de treinamento. Há também uma escassez de pesquisas em modelos animais com relação ao treinamento de força, níveis de lactato sanguíneo relacionados a diferentes intensidades de exercício e a utilização de sobrecargas elevadas, assim, a realização de mais estudos proporcionariam importante base para futuros estudos tanto em modelos animais quanto humanos.

Quanto à performance dos animais durante o período de treinamento, a suplementação não teve efeito sobre a quantidade de saltos realizada pelos animais, onde a média de saltos realizada pelo grupo GES e pelo grupo GE ao longo da evolução da sobrecarga, não teve diferença significativa. Assim podemos reforçar a questão do auxílio da suplementação sobre níveis de lactato sanguíneos para os animais suplementados, onde os animais realizando a mesma quantidade de exercícios

(número de saltos) dos animais não suplementados, responderam com concentrações de lactato sangüíneo menor. Porém faz-se necessário um maior numero de pesquisas que comprovem este fato.

A suplementação com HMB promoveu, também, o aumento significativo dos níveis de HDL, associada ao treinamento anaeróbico proposto. O grupo suplementado exercitado teve diferença significativa sobre o valor do grupo exercitado não suplementado ($p=0,01$), e ainda sobre o grupo suplementado sedentário ($p=0,02$). Como o grupo exercitado não suplementado não teve aumento significativo sobre o grupo sedentário, no protocolo de exercício proposto neste estudo, somente com a suplementação de HMB associada ao exercício, é que foram obtidos aumentos dos níveis de HDL. As outras variáveis analisadas, peso corporal, colesterol total, LDL, VLDL, triglicerídeos e glicemia não sofreram mudanças pela suplementação, nem mesmo pelo treinamento. Propõe-se estudos a longo prazo com o treinamento anaeróbico intenso associado a suplementação com HMB, onde possivelmente se encontrará valores significativos para outras variáveis, pelo menos para a fração LDL-col, onde outras pesquisas (NISSEN, 1994; NISSEN, 1997) já constataram a ação efetiva do HMB.

Conclui-se que a suplementação com HMB em ratos submetidos a um período de 30 dias de treinamento anaeróbico intenso, contribuiu para a capacidade anaeróbica através da diminuição das concentrações de lactato sangüíneo, e ainda, agiu de forma a aumentar os níveis plasmáticos de HDL-col. São necessários mais estudos, tanto em modelos animais quanto humanos, que comprovem esta ação em diferentes intensidades e tipos de exercício físico.

REFERÊNCIAS

- DIAS, T. F.; TONON, C. R.; MELLO, M. A. R. **Protocolo de exercício de força para treinamento de ratos**. Departamento de Educação Física, UNESP, Rio Claro-SP, 2003.
- FOX, Edward. L; BOWERS, Richard. W; FOSS, Merle. L. – **Bases Fisiológicas da Educação Física e dos Desportos**, 4ª. ed., Editora Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 1989.
- FOSS, M.L.; KETEVAN, S.J. **Bases Fisiológicas do Exercício e do Esporte**. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 6ª. Ed.,2000.
- GALLAGHER, Philip M.; CARRITHERS, John A.; GODARD, Michael P.; SCHULZE, Kimberley E.; TRAPPE, Scott W. **β -hydroxy- β -methylbutyrate ingestion, Part I: effects of strength and fat free mass**. Med. Sci. Sports Exerc., Vol. 32, No. 12, pp. 2109–2115, 2000a.
- GALLAGHER, Philip M.; CARRITHERS, John A.; GODARD, Michael P.; SCHULZE, Kimberley E.; TRAPPE, Scott W. **β -hydroxy- β -methylbutyrate ingestion, Part II: effects on hematology, hepatic and renal function**. Med. Sci. Sports Exerc., Vol. 32, No. 12, pp. 2116–2119, 2000b.
- GOBATTO, Cláudio A.; SIBUYA, Clarice Y.; AZEVEDO, José R. M.; KOKUBUN, Eduardo; MELLO, Maria A.R. **Caracterização da Intensidade de Exercício e Efeito de Treinamento Físico no Modelo de Natação de Ratos Wistar**. II Congresso Internacional de Educação Física e Motricidade Humana, Rio Claro-SP, 2001.
- HOUSTON, M.E. **Biochemistry Primer for Exercise Science**. Ed. Human kinetics, EUA, 1995.
- KNITTER, A. E.; PANTON, L.; RATHMACHER, J. A.; PETERSEN A.; SHARP, R.. **Effects of β -hydroxy- β -methylbutyrate on muscle damage after a prolonged run**. Journal of Applied Physiology, v.89, p.1340–1344, 2000.
- MAUGHAN, Ron; SHIRREFFS, S.M. **Biochemistry of Exercise IX**, 9ª ed., Ed. Human Kinetics, EUA, 1996.
- MAUGHAN, Ron; GLEESON, Michael; GREENHAFF, Paul L. **Bioquímica do Exercício e do Treinamento**. 1ª. Ed. São Paulo: Manole Ltda, 2000.
- MCARDLE, Willian. D; KATCH, Frank. I; KATCH, Victor L. – **Fisiologia do Exercício : Energia Nutrição e Desempenho Humano**. 4ª ed., Ed.Guanabara, RJ, 1998.

METABOLIC TECHNOLOGIES INCORPORATED (MTI) –A História do HMB, disponível em <http://www.juven.com/newsroom/juven_story.cfm>. Universidade de Iowa, EUA. Acesso em 6 de setembro de 2003.

NISSEN, S.; MORRICAL, D.; FULLER, J. C. **The effects of the leucine catabolite β -hydroxy- β -methylbutyrate on the growth and health of growing lambs.** J. Anim. Sci. 77:243, 1994.

NISSEN, Steven L; SHARP, Rich; RAY, M. **Effect os leucine metabolite β -hydroxy- β -metylbutyrate on muscle metabolism during resistance-exercise training.** Journal of Applied Physiology, v.81, p. 2095-2104, 1996.

NISSEN, Steven L; ABUMRAD, Naji N. **Nutricional role of the leucine metabolite β -hydroxy- β -metylbutyrate (HMB),** Nutricional Biochemistry 8: 300-311, 1997.

NISSEN, R. L. S.; PANTON, L.; VUKOVICH, M.; TRAPPE, S., FULLER, J. **β -hidroxy- β -methylbutyrate (HMB) supplementation in humans is safe and may decrease cardiovascular risk factors.** Journal of Nutrition. V.130. p 1937-1945, 2000.

NISSEN, Steven L; SHARP, Rich. **Effect of dietary supplements on lean mass and strength gains with resistance exercise: A meta-analysis.** Journal of Applied Physiology, 00755-October 25, 2002.

OSTASZEWSKI, B. P; KOSTIUK, S; BALASISKA, B.; JANK, M.; PAPET, I; GLOMOT, F. – **The leucine metabolite β -hydroxy β -methylbutyrate (HMB) modifies protein turnover in muscles of laboratory rats and domestic chickens in vitro.** Journal of Animal Physiology and Animal Nutricion, v. 84, p. 01, 2000.

PETERSON A.L., QURESHI M.A., FERKET P.R., FULLER J.C. **Enhancement of cellular and humoral immunity in young broilers by the dietary supplementation of beta-hydroxy-beta-methylbutyrate.** Journal of Immunopharmacology And Immunotoxicology, 21 (2): 307-330, 1999.

SIWICKI, Andrzej K.; FULLER John C.; NISSEN, Steven; OSTASZEWSKI Piotr; STUDNICKA, Maria. **In vitro effects of β -hydroxy- β -methylbutyrate (HMB) on cell-mediated immunity in fish.** Journal of Immunopharmacology And Immunotoxicology, 2000.

SLATER, Eve E; ALBERTS Alfred W; SMITH, Robert L. – **HMB-CoA Reductase Inhibitors - The Role of Cholesterol in Atherosclerosis – New Therapeutic Opportunities.** Editores: GRUNDY, Scott M; BEARN, Alexander G. Ed. Hanley & Belfus, Philadelphia, EUA, 1987, pg. 35.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ. **Normas para Apresentação de Documentos Científicos**. Editora da UFPR, Curitiba, 2001.

VIEIRA, Roberto; HAEBISCH, Host; KOKUBUN, Eduardo; HELL, Naomi S; CURL, Rui – **Sistema de Natação para Exercício Físico de Ratos**. Arq. Biol. Tecnol. 31 (3): 387-394 – Agosto, 1988.

VUKOVICH, Matthew. D.; DREIFORT, Geri. D. - **Effect of β -hydroxy β -methylbutyrate on the onset of blood lactate accumulation and VO_2 peak in endurance-trained cyclists**. The Journal of Strength and Conditioning Research, Vol. 15, No. 4, p. 491–497, 1997.

VUKOVICH, Matthew. D.; SLATER, Gary; MACCHI, Martina B; TURNER, Michael J; FALLON, Keiren; BOSTON, Tanya; RATHMACHER, John - **β -Hydroxy- β -Methylbutyrate (HMB) kinetics and the influence of glucose ingestion in humans**. Journal of Nutritional Biochemistry 12: 631-639, 2001.

VUKOVICH, M. D.; STUBBS, N. B.; BOHLKEN, R. M. B. **Body Composition In 70-Year-Old Adults Responds To Dietary β -Hydroxy- β -Methylbutyrate Similarly To That Of Young Adults**. J. Nutr. 131(7): 2049-2052, 2001

WELTMAN, Arthur. **The Blood Lactate Response to Exercise**. Ed. Human Kinetics, EUA, 1995.

WILMORE, Jack. H.; COSTILL, David. L. **Fisiologia do Esporte e do Exercício**, 2ª edição, Ed. Manole, São Paulo, 2001.