



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

PAULA GRACIA KOPPE

EFEITO AGUDO DA SUPLEMENTAÇÃO DE DIFERENTES DOSES DE ARGININA
SOBRE ALGUNS PARÂMETROS BIOQUÍMICOS APÓS EXERCÍCIO DE LONGA
DURAÇÃO EM RATOS

CURITIBA

2007

PAULA GRACIA KOPPE

EFEITO AGUDO DA SUPLEMENTAÇÃO DE DIFERENTES DOSES DE ARGININA
SOBRE ALGUNS PARÂMETROS BIOQUÍMICOS APÓS EXERCÍCIO DE LONGA
DURAÇÃO EM RATOS

Dissertação apresentada ao curso de Pós-Graduação em Educação Física, Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Educação Física.

Orientador: Prof. Dr. Raul Osiecki

CURITIBA

2007

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SISTEMA DE BIBLIOTECAS
BIBLIOTECA DE ARTES COMUNICAÇÃO E DESIGN - CABRAL

- K83 Koppe, Paula Gracia
 Efeito agudo da suplementação de diferentes doses de arginina
 sobre alguns parâmetros bioquímicos após exercício de longa duração
 em ratos. / Paula Gracia Koppe. – 2007.
 1 recurso online : PDF
- Orientador: Prof. Dr. Raul Osiecki.
 Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Paraná, Setor de
 Ciências Biológicas, Programa de Pós-graduação em Educação Física.
 Inclui referências.
1. Exercícios Físicos. 2. Arginina. 3. Biomarcadores. 4. Ratos. I.
 Osiecki, Raul. II. Universidade Federal do Paraná. Setor de Ciências
 Biológicas. III. Título.




MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SETOR DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE EDUCAÇÃO FÍSICA
COORDENAÇÃO DE PÓS GRADUAÇÃO
MESTRADO EM EDUCAÇÃO FÍSICA

TERMO DE APROVAÇÃO

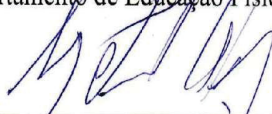
PAULA GRACIA KOPPE

“EFEITO AGUDO DA SUPLEMENTAÇÃO DE DIFERENTES DOSES DE ARGININA
SOBRE ALGUNS PARÂMETROS BIOQUÍMICOS APÓS EXERCÍCIO DE LONGA
DURAÇÃO EM RATOS”

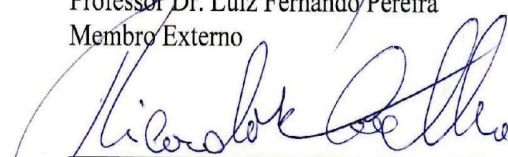
Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Educação Física – Área de Concentração Exercício e Esporte, Linha de Pesquisa Fisiologia da Performance, do Departamento de Educação Física do Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná, pela seguinte Banca Examinadora:



Professor Dr. Raul Osiecki (Orientador)
Departamento de Educação Física / UFPR



Professor Dr. Luiz Fernando Pereira
Membro Externo



Professor Dr. Ricardo Weigert Coelho
Membro Interno

Curitiba, 29 de Março de 2007.

RESUMO

A arginina tem sido adicionada na composição de suplementos para atletas, com muitas promessas associadas, independentemente da quantidade de arginina oferecida. Desta forma, o objetivo deste estudo foi verificar o efeito da suplementação de diferentes doses de arginina sobre alguns parâmetros bioquímicos após uma sessão de 90 min de exercício aquático moderado, identificando a melhor dose a ser administrada para a otimização da performance atlética. 40 ratos machos adultos da linhagem Wistar foram divididos aleatoriamente em GE1, suplementado com 0,25 g/kg de massa corporal e exercitado; GE2, suplementado com 0,50 g/kg de massa corpórea e exercitado; GE3, suplementado com 0,75 g/kg de massa corporal e exercitado; GE4, suplementado com água destilada e exercitado; e GC não suplementado e não exercitado. Todos os animais foram submetidos a jejum de 4h antes da suplementação e foram submetidos à sessão de exercício após 1h da suplementação. Após os 90 minutos de natação com carga de 5%, os animais foram imediatamente sacrificados para a coleta de sangue e análise de glicemia, insulina plasmática, amoniemia, uréia plasmática, creatinina plasmática e GH plasmático. O grupo que recebeu 0,75 g/kg de massa corporal de arginina foi o único que elevou a glicemia a um nível estatisticamente significativo ($179,16 \pm 44,33$). A insulina plasmática não apresentou diferença significativa entre os grupos, assim como os níveis de GH e creatinina plasmática. O acúmulo de compostos nitrogenados, amônia e uréia, apresentaram alterações nos grupos suplementados com Arginina. Os níveis plasmáticos de amônia apresentaram-se significativamente elevados em GE1 ($613,97 \pm 173,06$), GE2 ($611,03 \pm 278,11$) e GE3 ($678,50 \pm 120,88$) em relação aos grupos GE4 ($251,12 \pm 87,11$) e GC ($224,30 \pm 124,79$). A administração oral de 0,5 g/kg de massa corpórea (GE2) e 0,75 g/kg de massa corporal (GE3) provocaram um aumento significativo, $64,47 \pm 9,83$ e $65,70 \pm 7,10$ respectivamente, nos níveis plasmáticos de uréia. De acordo com estes resultados, o presente estudo aponta a suplementação oral de 0,75 g/kg de massa corporal como a única dose benéfica para a performance atlética.

Palavras-chave: Arginina; Exercício; Biomarcadores; Ratos.

ABSTRACT

Arginine has been used in some athletes' supplements, associated to many promises, independent of the quantity of arginine offered. The aim of this study was to verify the effect of supplementation of different doses of arginine in some biochemistry markers after a 90 min section of moderate aquatic exercise, identifying the best dose to be administered to improve athletic performance. 40 adult male rats of the Wistar ancestry were randomly divided into GE1, supplemented with 0,25 g/kg of body weight and exercised; GE2, supplemented with 0,50 g/kg of body weight and exercised; GE3, supplemented with 0,75 g/kg of body weight and exercised; GE4, supplemented with distilled water and exercised; and C neither supplemented nor exercised. All the animals were submitted to a fasting period of 4h before the supplementation and then started the exercise section one hour after the arginine oral administration. At the end of the exercise protocol, 90 min long with a 5% load, the animals were immediately sacrificed to the blood collection and analyze the glycaemia, plasmatic insulin, ammonemia, plasmatic urea, plasmatic creatinina and plasmatic GH. The group which was supplemented with 0,75 g/kg of body weight of arginine was the unique that increases statistically significant the glycemic levels ($179,16 \pm 44,33$). The plasmatic insulin did not altered significantly at any group, just as the GH levels and plasmatic creatinina. The nitrogenic compounds accumulation, ammonia and urea, showed an increase in all the arginine supplemented groups. The plasmatic levels of ammonia were significantly elevated in GE1 ($613,97 \pm 173,06$), GE2 ($611,03 \pm 278,11$) and GE3 ($678,50 \pm 120,88$) in relation to the other groups GE4 ($251,12 \pm 87,11$) and GC ($224,30 \pm 124,79$). The administration of oral arginine in a dose of 0,5 g/kg (GE2) and 0,75 g/kg (GE3) of body weight provoked a significantly augment, $64,47 \pm 9,83$ e $65,70 \pm 7,10$ respectively, at the plasmatic levels of urea. In order to the present data, the best dose of arginine supplementation is 0,75 g/kg of body weight as the unique beneficial dose to athletes' performance.

Key-words: Arginine; Exercise; Biochemistry; Rats.

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Valores de glicose plasmática (mg/dl).....	28
TABELA 2 - Valores de insulina plasmática (ng/nL).....	31
TABELA 3 - Valores de amônia plasmática (umol/L).....	34
TABELA 4 - Valores de uréia plasmática (mg/dL).....	38
TABELA 5 - Valores de creatinina plasmática (mg/dL).....	40
TABELA 6 - Valores de hormônio de crescimento (ng/nL).....	41

LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1 - Glicemia (mg/dl).....	29
GRÁFICO 2 - Valores em percentuais do aumento da glicemia nos grupos suplementados com arginina em relação ao grupo placebo.....	29
GRÁFICO 3 - Insulina plasmática (ng/nL).....	32
GRÁFICO 4 - Amônia plasmática (umol/L)	35
GRÁFICO 5 - Valores em percentuais do aumento da amoniemia nos grupos suplementados em relação ao grupo placebo e exercitado.....	36
GRÁFICO 6 - Ureia plasmática (mg/dl).....	38

LISTA DE ESQUEMAS

ESQUEMA 1 -	Produção de glicose através do Ciclo do Ácido Cítrico.....	27
ESQUEMA 2 -	Ciclo da Ureia.....	36

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
1.1 IDENTIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DO PROBLEMA	12
1.2 OBJETIVOS	13
1.2.1 Objetivo geral	13
1.2.2. Objetivos específicos	13
2. REVISÃO DE LITERATURA	15
2.1. ARGININA	15
2.2. METABOLISMO	15
2.3. ARGININA E SECREÇÃO HORMONAL	17
2.4. ARGININA E CREATINA	18
2.5. ARGININA E ÓXIDO NÍTRICO	18
2.6. EFEITO DA ARGININA SOBRE A PERFORMANCE	21
3. METODOLOGIA	23
3.1. ANIMAIS DO EXPERIMENTO	23
3.2. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	23
3.3. PROCEDIMENTOS E INSTRUMENTOS DE COLETA	24
3.3.1. Massa corporal	24
3.3.2. Suplementação	24
3.3.3. Exercício físico	24
3.3.4 Sacrifício dos animais	25
3.3.5 ANÁLISES BIOQUÍMICAS	25
3.4. ANÁLISE DOS DADOS	26
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	27
4.1 GLICOSE	27
4.2 INSULINA	31
4.3 AMÔNIA	33
4.4 UREIA	37
4.5 CREATININA	39

4.6 HORMÔNIO DO CRESCIMENTO	40
5. CONCLUSÃO	43
REFERÊNCIAS	45
APÊNDICE 1.....	54

1. INTRODUÇÃO

1.1 IDENTIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DO PROBLEMA

Um auxílio ergogênico é qualquer técnica de treinamento, prática nutricional, método farmacológico ou técnica psicológica que possa melhorar a capacidade de desempenho do exercício e ou melhorar as adaptações ao treinamento (1,2).

No caso dos suplementos nutricionais, são aqueles que podem ajudar no preparo ou rendimento de um indivíduo ao exercício, e/ou melhorar a recuperação do mesmo, podendo também permitir que o indivíduo tolere um treinamento mais intenso, auxiliando através de uma recuperação mais rápida ou auxiliar na manutenção da saúde durante o treinamento intenso (3). De acordo com esta definição, fica claro que a utilização de arginina por atletas tenha aumentado, uma vez que este aminoácido, condicionalmente essencial, é utilizado por inúmeras vias metabólicas incluindo a síntese de creatina (Cr) e óxido nítrico (NO), desintoxicação da amônia, estimulante da secreção de hormônio de crescimento (GH) e participante da regulação do metabolismo dos macros nutrientes (3, 4).

Já a suplementação associada ao exercício físico, em estudos com animais verificou-se um aumento da capacidade aeróbica (5), redução do catabolismo muscular (6), aumento do tempo para exaustão e redução da produção de lactato (5). Em humanos, promoveu um maior aumento na concentração plasmática de GH pós-exercício aeróbico de longa duração (7), aumento de força, aumento de massa muscular (3,8) e pico de potência em treinamento de força (3).

Sendo assim, a suplementação demonstra benefícios sobre o metabolismo de glicose, aumento da secreção de GH, controle do catabolismo muscular, aumento de força, capacidade aeróbica e redução dos níveis plasmáticos de lactato com diferentes doses de administração. Desta forma o presente estudo tenta responder o problema: Quais são os efeitos de diferentes doses de arginina sobre a performance atlética e perfil bioquímico de ratos após 90 min de exercício aeróbico aquático, e qual a melhor dose de administração de acordo com os objetivos do treinamento?

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar os efeitos da administração de diferentes doses de arginina associadas a uma sessão de 90 min de exercício aeróbico sobre alguns parâmetros bioquímicos em ratos.

1.2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar o efeito da administração de 0,25 g de arginina para cada kg de massa corporal sobre a concentração glicemia, insulina plasmática, GH, amônia plasmática, uréia plasmática e creatinina plasmática após uma sessão de exercício aeróbico de 90 min.
- Avaliar o efeito da administração de 0,50g de arginina para cada kg de massa corporal sobre a concentração glicemia, insulina plasmática, GH, amônia plasmática, uréia plasmática e creatinina plasmática após uma sessão de exercício aeróbico de 90 min.
- Avaliar o efeito da administração de 0,75 g de arginina para cada kg de massa corporal sobre a concentração glicemia, insulina plasmática, GH, amônia

plasmática, uréia plasmática e creatinina plasmática após uma sessão de exercício aeróbico de 90 min.

- Avaliar o efeito de uma sessão de exercício aeróbico de 90 min sobre a concentração de glicemia, insulina plasmática, GH, amônia plasmática, uréia plasmática e creatinina plasmática (Placebo).

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. ARGININA

A arginina é um aminoácido considerado condicionalmente essencial para a saúde de humanos adultos (1), tornando-se essencial em respostas a traumas e patologias (2,9,10). Este aminoácido possui papel vital na nutrição e metabolismo humano (11), sendo a sua principal fonte a dieta, alcançando um consumo entre 3,5 e 5 g por dia (3).

Nas células animais, a arginina é um dos mais versáteis aminoácidos, servindo como precursor para a síntese de proteínas, óxido nítrico e creatina (11,12), participando da transformação da amônia em uréia, sendo capaz de ser convertida em glicose e catabolizada para produção de energia (3), além de estimular a secreção de hormônios como a insulina, hormônio do crescimento (13), glucagon e prolactina (14,15).

Na área clínica, a suplementação dietética de arginina mostra-se importante na manutenção da massa corporal, manutenção da glicemia, manutenção das concentrações plasmáticas e endoteliais de arginina, e aumento da síntese de óxido nítrico (NO) (16). Já na prática esportiva a utilização de arginina está relacionada a 3 razões principais: 1) sua participação na secreção endógena do hormônio do crescimento; 2) seu envolvimento na síntese de creatina; 3) e sua participação no aumento de NO (3).

2.2. METABOLISMO

Ao nascer, o intestino delgado é o maior local de síntese de arginina no corpo (16,17), ele é capaz de converter 1mM de L-citrulina, 2 mM de L-glutamina e 1 mM de L-ornitina em L-arginina (16), mas gradativamente se torna a maior área de produção de citrulina para a síntese endógena de arginina, com um aumento na expressão da arginase (17,18). Esta transição é compensada por aumento gradativo da capacidade

renal de sintetizar arginina através da citrulina. Sendo assim, aproximadamente 60% da síntese de arginina em mamíferos adultos ocorre nos rins, exatamente onde a citrulina captada do sangue e é convertida em arginina, entre os tubos proximais (11).

Outro meio importante para a síntese de arginina ocorre no ciclo hepático da ureia (11) onde a remoção da amônia dos tecidos periféricos é realizada através de sua coleta pelo sangue, com posterior remoção pelo fígado. Este órgão transforma a amônia em ureia, composto solúvel 40 vezes menos tóxico, excretado pela urina. O ciclo metabólico responsável pela transformação de amônia em ureia chama-se ciclo de Krebs-Henseleit ou ciclo da ureia. Durante o ciclo, a ornitina capta uma molécula de amônia do sangue e transforma em citrulina, que por sua vez retira mais uma molécula de amônia do sangue, transformando-se em arginina. A molécula de arginina desdobra-se em ureia e ornitina, sendo a primeira excretada pelo rim e a segunda, reiniciadora do ciclo. Este ciclo deve ser devidamente alimentado com seus intermediários, como a ornitina (11), para assegurar sua eficiência.

A glutamina/glutamato enteral, e a glutamina plasmática, são extensivamente catabolizadas pelo intestino delgado através dos enterócitos (16,19-24) e servem como maiores precursores para a síntese intestinal de arginina e citrulina (24,25). Em adição a estes compostos, a prolina é também um precursor importante para a síntese intestinal de citrulina e arginina (20). Em humanos adultos (26) e ratos (27) virtualmente todo fluxo de citrulina plasmática é associado com a síntese endógena de arginina.

Então a regulação da homeostase da arginina, que depende do consumo dietético, do turnover da proteína corporal, da síntese e catabolismo da arginina, é de significância nutricional e fisiológica considerável. Entretanto, sabe-se que a síntese "de novo" de arginina contribui com apenas 5-15% do fluxo de arginina endógena em animais e humanos adultos, já que o maior contribuinte para o fluxo endógeno de arginina é o turnover proteico corporal. A via biossintética de arginina apresenta-se regulada e é uma fonte de substrato para a síntese de NO em uma variedade de células não hepáticas, sendo que a citrulina, que é co-produzida com NO, pode ser reciclada em arginina (11).

Em casos de necessidades aumentadas de arginina, seu fornecimento exógeno tem demonstrado facilitar a manutenção da massa magra corporal e melhorar a capacidade funcional, benefícios consistentes com as propriedades vaso dilatária da

arginina e seus efeitos sobre a secreção de hormônio de crescimento. Entretanto, mesmo com evidências das propriedades ergogênicas em populações clínicas, mantém-se incerto se a suplementação de arginina deve conferir um efeito ergogênico em indivíduos saudáveis expostos somente ao estresse do exercício físico (28).

2.3. ARGININA E SECREÇÃO HORMONAL

Além de ser precursora da produção de NO e síntese de proteína, em algumas instâncias a arginina exógena pode atuar como secretagoga, promovendo a liberação de hormônio do crescimento via inibição de secreção de somatostatina (3,29-31) e estímulo da pituitária anterior (29,32,33). Além do GH, a arginina também é conhecida por estimular diretamente a secreção endógena de insulina através das células beta pancreáticas (34), sendo que este hormônio possui capacidade vasodilatadora que pode mediar a liberação endógena de NO (35).

Em um estudo de Besset et al. (36) a administração oral de aspartato de arginina (250 mg/kg/dia) por sete dias aumentou a secreção noturna do Hormônio de Crescimento em homens saudáveis (20-35 anos) em 60%. Assim como o estudo de Isidoro et al. (37) que suplementou homens adultos com arginina (1,2 g) adicionada de lisina (1,2 g), observando um pico plasmático na concentração do hormônio do crescimento após 90 minutos da ingestão (37).

Colombani et al. (7) suplementou maratonistas com 5 g de aspartato de arginina 14 dias antes de uma maratona. Amostras de sangue foram coletadas um dia antes da prova, antes da corrida, após 31 km, no final da corrida, e após o período de duas horas. Os pesquisadores verificaram que as concentrações de hormônio do crescimento se elevaram durante a maratona em quantidades maiores do que só o exercício promove.

A suplementação de arginina está associada a um aumento na secreção de GH, hormônio anabólico, que promove desenvolvimento muscular, aumento de força e recuperação pós-treinamento (7).

2.4. ARGININA E CREATINA

A Creatina é uma substância fisiologicamente ativa, indispensável para a contração muscular sob forma de fosfocreatina (PCr). Durante exercícios anaeróbicos, a PCr é a primeira reserva de combustível para a ressíntese de adenosina trifosfato (ATP), composto energético responsável pelo suprimento de energia muscular (38,39).

Arginina, glicina, e metionina são três aminoácidos envolvidos na síntese de creatina (3), sendo que esta tem demonstrado aumentar a força muscular (40) e o tamanho das fibras musculares (41).

O aumento da concentração corporal de creatina está associado a uma melhora nos exercícios de força, de alta intensidade e de curta duração, especialmente com series repetidas, estando diretamente relacionada à maior intensidade e força de treinamento a que se pode atingir (42). De acordo com este fato, a suplementação de creatina parece melhorar a adaptação a treinamentos resistidos (43,44), aumentando a capacidade de se manter exercícios de alta intensidade por um maior período de tempo (42).

O aumento na disponibilidade de Cr muscular proporciona uma maior efetividade para o processo de refosforilação de adenosina difosfato (ADP) em ATP, consequentemente promovendo uma melhora na performance de treinos de força e capacidade de execução de exercícios de alta intensidade (7,45), além de promover uma fadiga mais tardia (3,24,46,47), promovendo um aumento de performance em nadadores, ciclistas, sprintistas, saltos repetidos e resistência de treino (48).

2.5. ARGININA E ÓXIDO NÍTRICO

A L-Arginina é o substrato fisiológico que contém nitrogênio para a síntese de óxido nítrico através da enzima Óxido Nítrico Sintase (7). Desta forma, muitas células utilizam arginina para gerar NO, que participa decisivamente em diversos processos, incluindo vasodilatação, resposta imune, neurotransmissão, adesão plaquetária e atividade leucocitária (12).

O aumento nas concentrações plasmáticas de arginina eleva a produção de NO vascular in vivo (49,50). Nos vasos sanguíneos, o NO derivado do endotélio ativa a guanilil ciclase para gerar, através de guanosina trifosfato (GTP) nas células do músculo liso, concentrações celulares elevadas de monofosfato cíclico de guanosina (cGMP) e causar relaxamento do músculo vascular; possuindo então, um papel importante na regulação do tônus muscular (3,4). Experimentalmente inibindo a produção de NO com nitro-L-arginina metil éster se elimina o alargamento da veia, mantendo-se o alto o fluxo sanguíneo (4).

A Óxido Nítrico Sintase (NOS), é a enzima que sintetiza óxido nítrico (NO) a partir de arginina e que se apresenta em várias isoformas. No músculo esquelético humano, as NOS estão localizadas no endotélio vascular (eNOS) e neural (nOS) e localizadas no sarcolema e citosol das fibras musculares, em aparente associação com mitocôndrias. Estudos relatam a importância da NOS sobre a regulação de vários eventos no tecido muscular esquelético, existindo evidências que suportam participação do NO na regulação e aumento do fluxo sanguíneo muscular sendo este mecanismo proposto a ser responsável pelo estímulo da síntese proteica sobre certas condições, como aumento da disponibilidade e captação de combustível e substrato via efeito vasodilatador (3), podendo participar na modulação da função contrátil, estímulo do transporte de glicose e oxidação no músculo esquelético e pode inibir a proteólise muscular (6). Além dos 3 fatores da utilização de arginina por atletas, estudos têm demonstrado uma interação entre NO e radicais superóxidos na regulação da força contrátil muscular (5), participação do NO na regulação da respiração mitocondrial (51) assim como na captação de glicose mediado pela insulina (7,8), demonstrando a importância da NOS para a função do músculo esquelético (3, 6).

A atividade contrátil aumenta a produção de NO nos músculos, e isto parece elevar o nível intracelular de cálcio (3). A ativação muscular aumentada pode então aumentar a ativação da NOS que aumenta o cálcio citosólico, presumidamente de origem do retículo sarcoplasmático (51). Esta expectativa tem sido apoiada experimentalmente pela medida três vezes aumentada da concentração de NO no ar expirado durante o exercício (48) e pelo estímulo elétrico de alta frequência no músculo in situ, após a qual o músculo foi exercitado e mostra maior liberação de NO que não estimulado (52).

De Castro et al. (53) suplementou ratos com dose de 35 mg/dia de arginina durante 4 semanas verificando uma redução na glicose sanguínea, aumento na concentração de insulina plasmática e redução dos batimentos cardíacos e pressão arterial dos animais suplementados em relação ao grupo controle.

Estudos têm demonstrado que a administração de L-arginina melhora a função endotelial e aumenta a habilidade cardiovascular ao exercício pelo aumento do vaso dilatação (54). Em animais hipercolesterolêmicos a suplementação de L-arginina normaliza a capacidade aeróbica (55).

Robert et al. (56) verificaram a ação de uma sessão de 45 minutos de exercício exaustivo em esteira sobre a atividade da NOS em ratos, verificando um aumento de 37% na atividade enzimática no grupo exercitado quando comparado ao controle e estes dois grupos ainda apresentaram uma melhor atividade de NOS quando comparado ao grupo que foi suplementado dois dias com supressor de NOS NG-nitro-L-arginine metil ester (L-NAME).

Dados em humanos indicam que a vasodilatação induzida pela insulina é mediada por NO (57). Achados demonstram que ao menos metade da resposta vascular a L-arginina é mediada pela secreção endógena de insulina. Além disso, a insulina também pode aumentar o conteúdo de cGMP nas células musculares lisas (58) e plaquetas humanas (59).

No estudo de Kohli et al. (6) em ratos diabéticos, a suplementação de 1,4 g/kg/dia de arginina produziu redução da glicose plasmática e aumento do nível sanguíneo de insulina nos animais diabéticos, reduziu a glutamina plasmática nos animais saudáveis, aumentando a produção de óxido nítrico em ambos os grupos de animais.

Um estudo prévio (60) mostrou que a incubação do músculo esquelético com inibidor de NOS diminui o transporte de glicose. Ambos, insulina e exercício estimulam a utilização do transporte de glicose (61). Entretanto, o potencial do NO em modular o transporte de glicose por este estímulo ainda é desconhecido. As evidências disponíveis sugerem que a ativação da insulina e arginina envolvem diferentes mecanismos.

Primeiro, insulina e arginina estimulam a produção de NO nas células endoteliais (62,63), o que contribui para o aumento do fluxo sanguíneo e, então, glicose e aminoácidos são captados pelo músculo esquelético in vivo (64). Segundo, NO por si só estimula o transporte e oxidação da glicose pelo músculo esquelético (65). E por fim, concentrações fisiológicas de NO devem inibir a proteólise muscular (66).

2.6. EFEITO DA ARGININA SOBRE A PERFORMANCE

Um suplemento nutricional que aumente a capacidade de exercício apresenta um efeito ergogênico. O efeito ergogênico potencial da L-arginina cai sobre 2 categorias gerais: efeito agudo em que resulta em melhoramento na capacidade de exercício após a ingestão de arginina, e o efeito crônico que resulta do estímulo a síntese protéica muscular e então ao anabolismo da proteína muscular (30).

No estudo de Meneguelo et al. (5) ratos sedentários e treinados foram suplementados durante uma semana com Arginina a 0,4 g/kg/dia e avaliados após a prática de exercício exaustivo com carga de 9 % do peso corporal, verificando-se um aumento de 50% no tempo de exaustão nos animais sedentários e 72,5% nos animais treinados. A suplementação também reduziu a produção de lactato nos sedentários e da glicose plasmática nos treinados. Nos grupos suplementados, ainda se observou um maior consumo de glicogênio muscular e hepático, redução da amônia plasmática e aumento de glutamina sanguínea.

Elam et al. (13) suplementaram 22 homens adultos em treinamento de força por 5 semanas com 1 g/dia de arginina associado a mais 1g/dia de ornitina verificando que esta suplementação mostrou-se efetiva sobre o aumento de força, de massa muscular e redução no catabolismo tecidual.

Maxwell et al. (55) testaram a suplementação de L-arginina sobre a capacidade aeróbica de ratos com a atividade endotelial derivada do óxido nítrico reduzida através da distância percorrida em esteira e $VO_{2máx}$. Animais normais (Apo-E+) e deficientes em apolipoproteína E (Apo-E⁻) receberam água com 6% de L-arginina durante 4 semanas e então foram testados em esteira, verificando-se que a suplementação normalizou a capacidade aeróbica dos animais Apo-E⁻ e ainda melhorou a capacidade dos animais Apo-E+.

No recente estudo de Campbell et al. (64) com a suplementação de 6 g/dia de L-arginina e mais 6 g/dia de a-cetoglutarato em homens adultos treinados, com mais de um ano de treinamento de força, verificou-se a segurança e efeito sobre a performance, concluindo-se que a suplementação de arginina promove aumento de força máxima, pico de potência e arginina plasmática, sem alterar a capacidade aeróbica dos indivíduos.

3. METODOLOGIA

3.1. ANIMAIS DO EXPERIMENTO

Para o presente estudo foram utilizados 40 ratos adultos (90 dias) da linhagem Wistar, machos e sedentários. A pesquisa foi desenvolvida no CEPEFIS - Centro de Estudos da Performance Física da Universidade Federal do Paraná. O experimento passou pela aprovação no Comitê de Ética Animal da UFPR (Anexo 01).

Os animais foram mantidos no ciclo claro/escuro de 12 h cada, recebendo ração e água ad libitum, sendo alimentados com ração própria para roedores. No dia do experimento os animais foram submetidos a um jejum prévio de 4h antes da administração do suplemento ou do sacrifício no caso do grupo controle.

Para a realização do experimento os ratos foram distribuídos aleatoriamente em 5 grupos com 8 animais em cada.

3.2. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

GRUPOS	TRATAMENTO	OBSERVAÇÕES
GE1	T1	O1
GE2	T2	O1
GE3	T3	O1
GE4	T4	O1
GC	X	O1

Legenda:

GE1= Grupo Experimental 1 T1= Suplementação de 0,25 g/kg/dia Arginina com Exercício

GE2= Grupo Experimental 2 T2= Suplementação de 0,5 g/kg/dia Arginina com Exercício

GE3= Grupo Experimental 3 T3= Suplementação de 0,75 g/kg/dia Arginina com Exercício

GE4= Grupo Experimental 4 (placebo)

T4= Suplementação de 0,25 g/kg/dia Água Destilada com Exercício

GC= Grupo Controle X= Sem Suplementação e sem Exercício

O1= Análises bioquímicas

3.3. PROCEDIMENTOS E INSTRUMENTOS DE COLETA

3.3.1. MASSA CORPORAL

Os animais foram pesados ao término do jejum para a confecção dos coletes de sobrecarga e definição das quantidades de suplementação individualizados.

3.3.2. SUPLEMENTAÇÃO

Os animais foram divididos aleatoriamente em 5 grupos: GE1 com administração de 0,25 g/kg de arginina antes do exercício, GE2 com administração de 0,5 g/kg de arginina antes do exercício; GE3 com administração de 0,75 g/kg de arginina antes do exercício; GE4 com administração de 0,25 g/kg de água destilada antes do exercício (placebo); GC sem administração de arginina nem água e não submetido ao exercício.

As dosagens foram estipuladas através da conversão das doses de 2 g, 4 g e 6 g, consideradas seguras para a suplementação em humanos. Esta conversão foi realizada através do Fator de Conversão de acordo com a Superfície Equivalente do corpo Humano para Ratos, onde doses para humanos com massa corporal de 60 Kg expressas em mg.kg^{-1} devem ser aumentadas em 7 vezes para se tornarem apropriadas a superfície corporal de ratos (67).

A suplementação de Arginina e a administração de água destilada foram feitas através de gavagem, 60 min antes da sessão de exercício. As doses foram calculadas através da massa corporal de cada animal.

3.3.3. EXERCÍCIO FÍSICO

A sessão do exercício foi realizada em tanque com temperatura da água controlada por meio de termostato, mantida entre 30 e 32 °C (68) e coluna de água com no mínimo 40 cm de altura para evitar que os ratos apoiassem a cauda no fundo do recipiente. Os animais nadaram durante 90 min com colete de chumbo fixado ao corpo,

totalizando uma sobrecarga de 5 % do seu peso corporal, caracterizando um exercício aeróbico (steady-state de lactato) (69).

Os animais foram colocados no tanque para a sessão de natação com diferença de 15 min cada, para melhor controle e observação dos animais, além de assegurar um período de tempo suficiente para o sacrifício e coleta do sangue.

Os animais que não conseguiram completar o tempo proposto, se mantendo por 30 segundos no fundo do aquário, foram descartados e novos animais foram então submetidos ao exercício.

O experimento foi sempre realizado pela manhã, com início do jejum às cinco horas da manhã. Após 4h (nove horas da manhã) os animais foram suplementados e após 1 h (dez horas da manhã) iniciaram a sessão de natação. Após os 90 minutos de exercício (onze e meia da manhã) os animais foram sacrificados. Por dia, 5 animais eram submetidos ao processo, sendo um animal de cada grupo.

3.3.4 SACRIFÍCIO DOS ANIMAIS

Os animais foram sacrificados por meio de decapitação, sem a utilização de anestésico, imediatamente após o exercício, para a coleta de sangue e realização das análises bioquímicas. No caso do grupo controle, que não foi submetido ao exercício, os animais foram mantidos em jejum por 4 horas e então sacrificados.

3.3.5 ANÁLISES BIOQUÍMICAS

Após o sacrifício, 1 ml de sangue foi coletado em um tubo de ensaio com 1 gota de heparina e o restante do sangue foi acondicionado em outro tubo de ensaio vazio. Os dois tubos foram imediatamente centrifugados e os plasmas acondicionados sob refrigeração. Após congeladas as amostras foram enviadas ao laboratório Mertolab para realização das seguintes análises:

- Glicose: através do método Colorimétrico Enzimático, analisando 1,0 mL de plasma (Fluoreto).
- Insulina: através do método Imunofluorimetria, analisando 0,5 mL de Soro.
- Amônia: através do método Enzimático UV, analisando 1,0 mL de Plasma Heparinizado.
- Hormônio de Crescimento: através do método Imunofluorimetria, analisando 0,5 mL de Soro.
- Uréia: através do método Colorimétrico Enzimático, analisando 1,0 mL de Soro ou plasma (Fluoreto).
- Creatinina: através do método Colorimétrico, analisando 1,0 mL de Soro ou Plasma (EDTA, Fluoreto).

3.4. ANÁLISE DOS DADOS

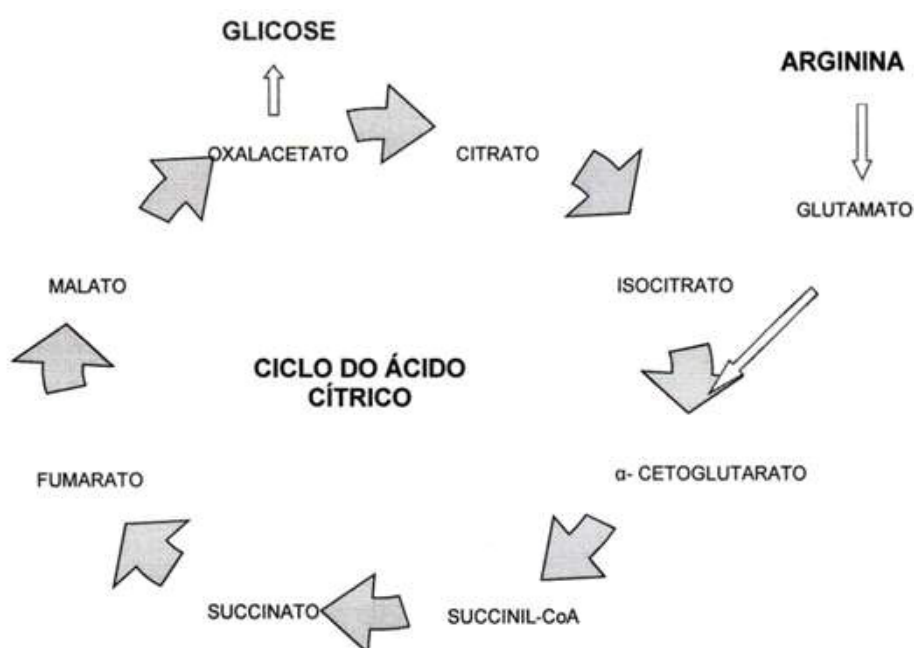
Para a apresentação dos dados foi utilizada a estatística descritiva (média e erro padrão). Nas comparações entre grupos Experimental 1, Experimental 2, Experimental 3, Experimental 4 e Controle utilizou-se ANOVA. Quando estas apresentavam diferenças significativas, aplicou-se então o "pos-hoc" LSD.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 GLICOSE

Fisiologicamente, o termo fadiga é definido, como a "incapacidade para manter o poder de rendimento" durante a prática de exercícios (70, 71). Durante exercícios físicos intensos e prolongados, o aparecimento da fadiga se relaciona principalmente com o desenvolvimento da hipoglicemia (72). Sendo a arginina um aminoácido glicogênico (73) (Esquema 01), teve-se como objetivo avaliar o efeito da suplementação deste aminoácido sobre a glicemia.

Esquema 01 - Produção de glicose através do Ciclo do Ácido Cítrico



Fonte: Lehninger, Nelson & Cox, 2002

Tabela 01 são apresentados os valores referentes à Glicose plasmática imediatamente após o término da sessão de exercício deste estudo.

Tabela 01 - Valores de glicose plasmática (mg/dl)

Grupos	Média	Desvio Padrão	n
GE1	121,20	±41,55	8
GE2	126,16	±36,63	8
GE3	179,16*	±44,33	8
GE4	105,54	±44,51	8
GC	138,17	±9,56	8

*diferença significativa ($p < 0,05$) em relação aos outros grupos

GE1 - grupo suplementado com 0,25 g/kg/dia arginina com exercício

GE2 - grupo suplementado com suplementação de 0,5 g/kg/dia arginina com exercício

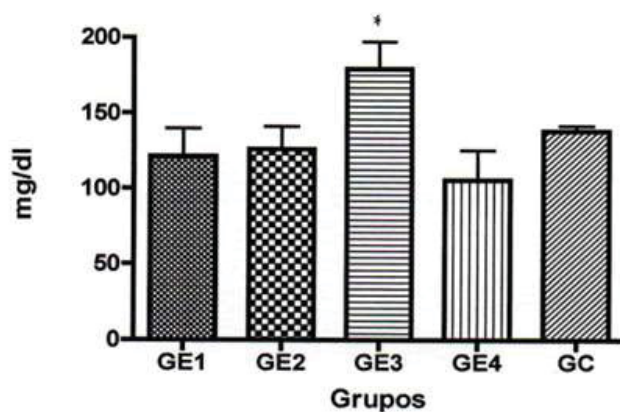
GE3 - grupo suplementado com suplementação de 0,75 g/kg/dia arginina com exercício

GE4 - grupo suplementado com suplementação de 0,25 g/kg/dia água destilada com exercício (placebo)

GC - grupo sem suplementação e sem exercício

Através da análise da glicose sérica, pode-se constatar que a quantidade de arginina administrada pode ter influenciado a taxa de glicose plasmática, sendo que o grupo suplementado com a maior dose (0,75 g/kg) apresentou o maior aumento ($179,16 \pm 44,33$) de glicose sanguínea (Gráfico 01). Este aumento, por sua vez, mostrou-se significativo ($p < 0,05$) quando comparado aos outros grupos experimentais (GE1, GE2 e GE4) e ao grupo controle (GC). Não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre os valores dos outros grupos (GE1, GE2, GE4 e GC).

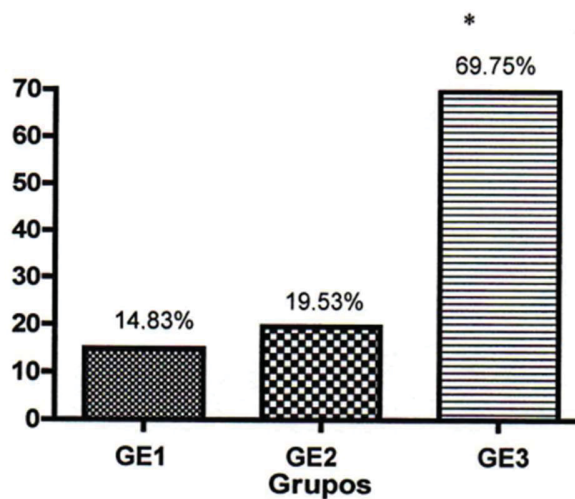
Gráfico 01 - Glicemia. Valores em mg/dl, expressos em média (dp).



*diferença significativa ($p < 0,05$) em relação aos outros grupos

No Gráfico 02 pode-se avaliar o efeito da suplementação de arginina, isoladamente do efeito provocado pelo exercício sobre a glicose plasmática.

Gráfico 02 - Valores de diferenças percentuais do aumento da glicemia nos grupos suplementados com arginina (GE1, GE2 e GE3) em relação ao grupo placebo (GE4)



*diferença significativa ($p < 0,05$) em relação ao grupo placebo (GE4)

Assim como a dose de 0,75 g/kg de massa corporal do presente estudo, no estudo de McConell GK et al (74) em humanos, a infusão de arginina (30g) após 75 min de exercício em steady state em bicicleta ergométrica promoveu um aumento significativo na glicemia dos atletas pelos 60 min seguintes em que se mantiveram em exercício. Neste estudo, o aumento de glicose sérica foi parcialmente associado a uma situação de hipoglicemia causada imediatamente após a infusão do aminoácido, que estimularia a liberação de glicose pelo fígado. Sendo esta liberação muito sensível às alterações glicêmicas (76), pode também ter ocorrido devido ao aumento da captação de glicose provocado pela infusão deste aminoácido (76), assim como pelo aumento do glucagon em resposta à administração de arginina em estado de repouso (77). Observando ainda a cinética da insulina e da glicose no estudo citado acima de McConell GK et al (74), observa-se ainda que ao final dos 30 min de exercício, os valores plasmáticos destes dois compostos retornaram aos níveis basais (momento da administração da arginina), dado que vem em encontro aos valores encontrados após 90 min de natação na presente pesquisa.

Em contraste com os resultados encontrados, a suplementação oral de 10g de arginina acompanhada de 70g de carboidrato simples após a prática de exercícios de resistência e ciclismo, não promoveu alteração significativa da glicose e insulina plasmática quando comparada ao grupo placebo (carboidrato + glicina) (78). Este fato pode estar correlacionado ao efeito da suplementação de carboidrato sobre a glicemia pós exercício, que inibiria a síntese hepática de glicose sugerida pela administração de arginina (77,79).

A etiologia da fadiga tem sido apontada como multifatorial, podendo ser caracterizada como central e periférica (72), sendo que esta está correlacionada com a depleção de fosfocreatina e glicogênio muscular e acúmulo de prótons no músculo; e aquela ao decréscimo da concentração da glicose sanguínea e o aumento na proporção de triptofano e aminoácidos neutros seriam responsáveis pelo seu desenvolvimento (80).

Tendo em vista estes processos, entende-se que os estudos que preconizam a suplementação de carboidratos antes e durante o exercício encontram resultados positivos sobre o tempo para se atingir a fadiga (81-84). Sendo assim, a suplementação de 0,75g de arginina uma hora antes de um exercício de alta intensidade e longa duração

deve ser estudada em humanos, como uma opção para as modalidades em que o transporte e consumo de carboidrato seja difícil, da mesma forma que indivíduos que apresentam sensibilidade ao consumo deste nutriente durante o exercício, prevenindo os desconfortos gástricos e intestinais.

4.2 INSULINA

A insulina é o hormônio responsável pelo metabolismo da glicose, regulando sua velocidade de transporte para os tecidos, principalmente musculares e adiposos, com exceção do cérebro (85,86). Durante a prática de exercícios, observa-se que a concentração plasmática de insulina é inversamente proporcional ao tempo e intensidade do mesmo (85), entretanto, em estado de repouso, sabe-se que a suplementação de arginina provoca um aumento na insulina plasmática (74), sendo o mais potente aminoácido neste processo (87).

Os níveis séricos de insulina logo após o término da sessão de exercício demonstram que nem a suplementação, assim como, nem a quantidade de arginina administrada apresentou diferença significativa neste parâmetro bioquímico (Tabela 02).

Tabela 02 - Valores de insulina plasmática (ng/nL)

Grupos	Média	Desvio Padrão	n
GE1	0,33	±0,34	8
GE2	0,20	±0,00	8
GE3	0,20	±0,00	8
GE4	0,20	±0,00	8
GC	0,20	±0,00	8

GE1 - grupo suplementado com 0,25 g/kg/dia arginina com exercício

GE2 - grupo suplementado com suplementação de 0,5 g/kg/dia arginina com exercício

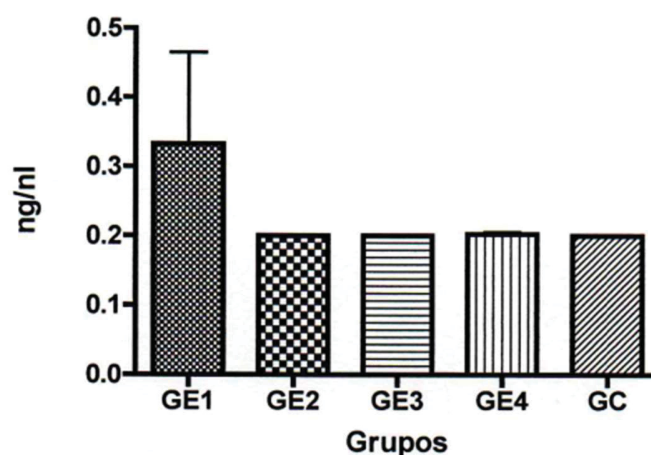
GE3 - grupo suplementado com suplementação de 0,75 g/kg/dia arginina com exercício

GE4 - grupo suplementado como suplementação de 0,25 g/kg/dia água destilada com exercício (placebo)

GC - grupo sem suplementação e sem exercício

Visualizando os dados através do Gráfico 03 nota-se que não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos experimentais e controle.

Gráfico 03 - Insulina plasmática. Valores em ng/nl, expressos em média (dp).



Na infusão de 30g de arginina, em atletas de endurance treinados, no início dos últimos 60 minutos de exercício em bicicleta ergométrica realizado à $72 \pm 1\%$ do VO_2 , observou-se um incremento na liberação de insulina após os primeiros 15 minutos da administração, retornando aos níveis iniciais (momento da infusão) ao final dos 60 minutos (74). Partindo deste fato, mostra-se coerente a não diferença significativa encontrada entre os valores dos grupos suplementados (GE1, GE2 e GE3) e o grupo placebo (GE4).

Em relação ao nível de insulina plasmática do grupo controle, diferentemente do valor encontrado, esperava-se que ela se apresentasse acima do valor dos animais exercitados, conforme o artigo citado acima que encontrou uma diferença de 45% entre o repouso e o final do exercício. Tendo a metodologia do presente estudo preconizado as 4h de jejum pré experimento, este estado pode então ser responsável pela dosagem de insulina plasmática no mesmo nível do pós exercício, uma vez que a glicemia do grupo controle não se mostrou significativamente diferente da glicemia do grupo placebo exercitado no presente estudo.

O efeito da suplementação oral de 10g de arginina juntamente com 70g de carboidrato após 30 minutos do término de exercícios de força e ciclismo em humanos (70% VO_2 pico), não se mostrou eficiente sobre a elevação da glicemia plasmática quando comparada ao grupo suplementado com alicina e carboidrato (placebo), assim como não foi capaz de provocar uma alteração significativa nos níveis de insulina (78). Com estes resultados o autor sugere que a resposta glicêmica em consequência da administração de carboidrato teria sido responsável pela inibição da liberação de glucagon, que normalmente é provocada pela administração da arginina e responsabilizada pela elevação da glicemia (76).

4.3 AMÔNIA

Uma das formas de produção de Amônia no corpo humano é através da degradação de ATP ou aminoácidos no músculo esquelético. Durante o exercício, existe um aumento da liberação de NH_3 pela contração dos músculos esqueléticos para dentro do sangue e um aumento correspondente nos níveis plasmáticos de NH_3 . Este aumento varia de acordo com o tipo, intensidade e duração do exercício (89). Sendo a amônia tóxica para os animais (73), sabe-se que o seu acúmulo plasmático provoca alterações tanto no metabolismo de amônia/neuro-transmissores quanto à atividade excitatória dos neurônios (90), desta forma provocando perda da coordenação e do controle motor e/ou produção de sintoma severo de fadiga central (90-93).

Na Tabela 03, estão apresentados os valores referentes à Amônia plasmática após a sessão de exercício.

Tabela 03 - Valores de amônia plasmática ($\mu\text{mol/L}$)

Grupos	Média	Desvio Padrão	n
GE1	613,97*	$\pm 173,06$	8
GE2	611,03*	$\pm 278,11$	8
GE3	678,50*	$\pm 120,88$	8
GE4	251,12	$\pm 87,11$	8
GC	224,30	$\pm 124,79$	8

*diferenças significativas ($p < 0,05$) em relação ao GE4 e GC

GE1 - grupo suplementado com 0,25 g/kg/dia arginina com exercício

GE2 - grupo suplementado com suplementação de 0,5 g/kg/dia arginina com exercício

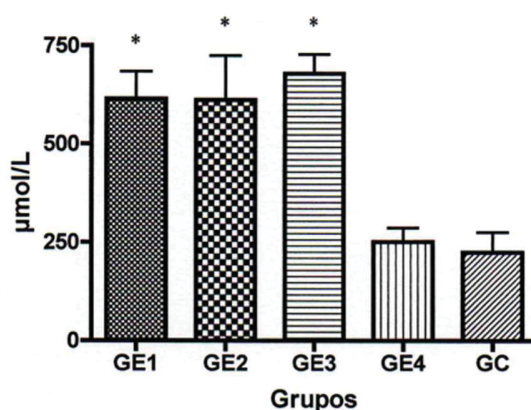
GE3 - grupo suplementado com suplementação de 0,75 g/kg/dia arginina com exercício

GE4 - grupo suplementado com suplementação de 0,25 g/kg/dia água destilada com exercício (placebo)

GC - grupo sem suplementação e sem exercício

Analisando os valores de amônia plasmática, constata-se que as diferentes doses de arginina aumentaram significativamente ($p < 0,05$) a quantidade deste metabólito no sangue (GE1= $613,97 \pm 173,06$; GE2= $611,03 \pm 278,11$; GE3= $678,50 \pm 120,88$) quando comparada aos grupos que não receberam o aminoácido (GE4= $251,12 \pm 87,11$ e GC= $224,30 \pm 124,79$). Além disso, fica claro na visualização do Gráfico 04 que a quantidade de amônia plasmática não é diretamente proporcional à dose, uma vez que a suplementação com 0,5 g/kg de massa corporal de arginina não promoveu um maior acúmulo de amônia que a dose de 0,25 g/kg de massa corporal.

Gráfico 04 - Amônia plasmática. Valores em mol/L, expressos em média (dp).

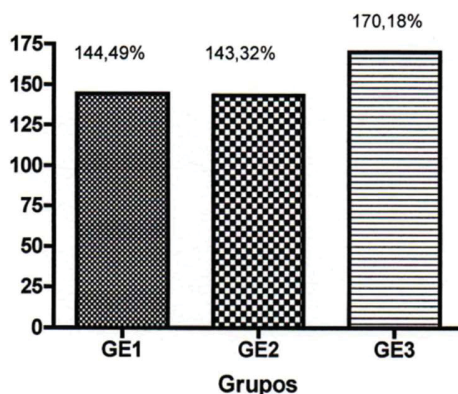


O maior acúmulo promovido pela maior dose de aminoácido não foi suficiente para gerar uma diferença estatisticamente significativa entre os valores médios dos grupos suplementados ($p > 0,05$).

Através da avaliação dos dados referentes ao G4 e GC, nota-se que a sessão de exercício por si só, também não foi capaz de promover um acúmulo de amônia significativo quando comparado ao grupo controle ($p > 0,05$), demonstrando que o exercício proposto se manteve em intensidade fisiológica moderada, já que o acúmulo de amônia no sangue apresenta uma relação linear com a produção de lactato (91,92).

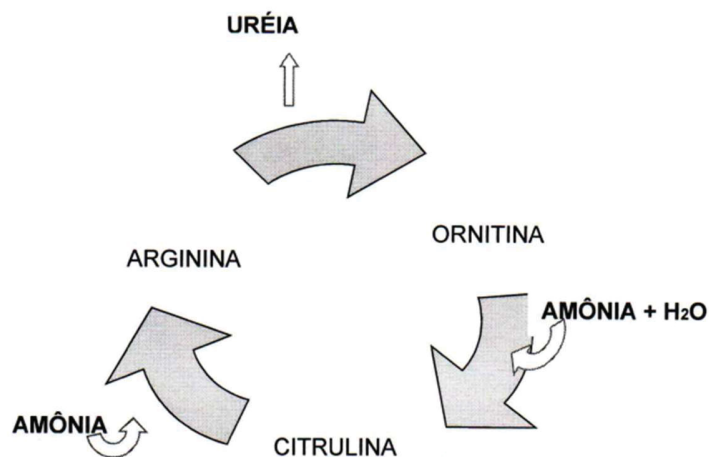
Desta maneira, verifica-se que a simples suplementação de arginina influencia o metabolismo da amônia independente do exercício, como confirma o resultado do estudo em ratos sedentários que receberam dietas com 10 g, 20 g e 30 g de arginina/100g e dieta padrão (3g/100g de proteína) durante 14 dias. Todas as concentrações de arginina provocaram um aumento na amoniemia, entretanto, somente o aumento promovido pela dose de 30 g foi significativo, atingindo 52% com relação à dieta padrão (93).

Gráfico 05 - Valores em percentuais do aumento da amoniemia nos grupos GE1, GE2 e GE3 em relação ao grupo placebo (GE4)



Além da maior produção, esta elevação do conteúdo plasmático da amônia pode também estar relacionada à sua eliminação. Este processo é realizado através do Ciclo da Ureia (Esquema 2) que necessita do fornecimento de quantidades adequadas de todos os seus intermediários (ornitina e citrulina) para um seu bom funcionamento (11).

Esquema 02 - Ciclo da ureia



Fonte: Lehninger, Nelson & Cox, 2002

Diferente destes achados, a suplementação de 20g de arginina-glutamato antes de uma sessão de exercício de 30 min a 80% do VO_2 máx em bicicleta ergométrica promoveu uma redução significativa no aumento da amoniemia provocada pelo exercício

quando comparada à administração de placebo e administração do aminoácido em repouso (95). Sugere-se que este fato esteja correlacionado com a suplementação do glutamato, aminoácido que na presença de arginina é transformado em N-acetilglutamato, responsável pela ativação alostérica da enzima carbamil fosfato sintetase, que ajusta a atividade do ciclo da ureia (73).

Assim como a administração da arginina, a suplementação de aminoácidos de cadeia ramificada antes de uma sessão de exercício a 75% do VO_2 máx demonstra o mesmo efeito sobre a amônia plasmática (95).

4.4 UREIA

Para a utilização dos aminoácidos no fornecimento energético, é necessário que se retire o nitrogênio de sua molécula. Neste processo de desaminação, o grupo amina é então transformado em uréia e excretado pelo organismo (73). A síntese de uréia também pode ser resultado da atividade da enzima arginase em cultura de células de músculo esquelético, quando incubada na presença de arginina (96).

A Tabela 04 apresenta os valores referentes à Ureia plasmática após a sessão de 90 minutos de natação com carga de 5%. Os dados avaliados demonstram um aumento de uréia sérica em todos os grupos que receberam a suplementação de arginina, entretanto, somente os grupos com as maiores doses ($GE_2 = 64,47 \pm 9,83$ e $GE_3 = 65,70 \pm 7,10$) apresentaram diferenças significativas ($p < 0,05$) quando comparados aos grupos $GE_4 (54,73 \pm 6,51)$ e $GC (53,86 \pm 4,33)$.

Tabela 04 - Valores de ureia plasmática (mg/dL)

Grupos	Média	Desvio Padrão	n
GE1	60,47	±9,83	8
GE2	64,50*	±9,08	8
GE3	65,70*	±7,10	8
GE4	54,73	±6,51	8
GC	53,86	±4,33	8

*diferenças significativas ($p < 0,05$) em relação ao GE4 e GC

GE1 - grupo suplementado com 0,25 g/kg/dia arginina com exercício

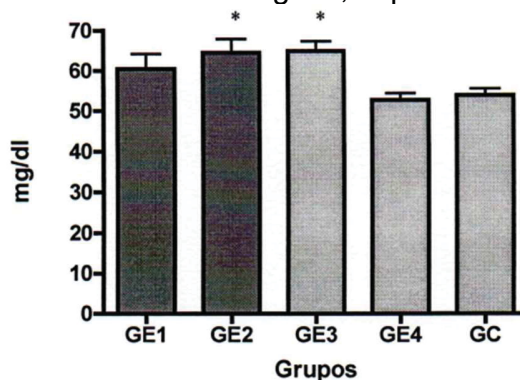
GE2 - grupo suplementado com suplementação de 0,5 g/kg/dia arginina com exercício

GE3 - grupo suplementado com suplementação de 0,75 g/kg/dia arginina com exercício

GE4 - grupo suplementado com suplementação de 0,25 g/kg/dia água destilada com exercício (placebo)

GC - grupo sem suplementação e sem exercício

Sabendo-se que o fornecimento energético através das proteínas se eleva assim como a intensidade do exercício, estudos verificaram que exercícios realizados entre 30 e 70% do VO_2 máx (97-100) não são capazes de elevar significativamente o conteúdo plasmático de uréia, uma vez que a cooperação energética proporcionada por este sistema não ultrapassa 5% do gasto energético do exercício (97). Estes resultados concordam com os obtidos no presente estudo (Gráfico 06), além de reforçar a característica moderada do protocolo de natação sugerido.

Gráfico 06 - Ureia plasmática. Valores em mg/dL, expressos em média (dp).

* diferenças significativas ($p < 0,05$) em relação ao GE4 (placebo) e GC

A administração de arginina (56 ou 561 mg.kg⁻¹.dia⁻¹), durante 6 dias, em homens adultos saudáveis, evidenciou uma redução significativa na produção e excreção de ureia, sendo este fato associado ao efeito anabólico do aminoácido na economia de nitrogênio corporal (98). Este estudo apresenta-se contra os resultados obtidos, porém, além de não possuir o fator exercício, os autores sugerem que o efeito anabólico tenha sido causado por um aumento significativo da insulina plasmática pós-prandial, dado que também não se adequou aos valores de insulina pós sessão de natação.

Devido a toxicidade da uréia, para cada grama deste metabólito excretado, são necessários cerca de 100 ml de água para sua diluição (85). Tendo em vista o aumento plasmático deste composto provocado pela suplementação de arginina, sugere-se uma maior atenção para o consumo de líquidos para reduzir os riscos de desenvolvimento de uma desidratação (99).

4.5 CREATININA

A creatinina é um composto orgânico nitrogenado e não-proteico. Sua avaliação mostra-se de grande utilidade para a verificação da função renal (taxa de filtração glomerular), uma vez que não é responsiva às alterações dietéticas e/ou hormonais (100). Durante exercícios intensos e prolongados, autores sugerem que a lise de células musculares seria responsável por um aumento na concentração plasmática de creatinina (10,11).

Os níveis de creatinina sérica, neste estudo, após a sessão de 90 minutos de natação com carga de 5% do peso corporal fixada ao corpo do animal não sofreu alteração significativa ($p < 0,05$) pela suplementação ou quantidade de arginina administrada ou pela sessão de exercício (Tabela 05).

Tabela 05 - Valores de creatinina plasmática (mg/dL)

Grupos	Média	Desvio Padrão	n
GE1	0,65	±0,13	8
GE2	0,62	±0,11	8
GE3	0,60	±0,09	8
GE4	0,60	±0,11	8
GC	0,61	±0,08	8

GE1 - grupo suplementado com 0,25 g/kg/dia arginina com exercício

GE2 - grupo suplementado com suplementação de 0,5 g/kg/dia arginina com exercício

GE3 - grupo suplementado com suplementação de 0,75 g/kg/dia arginina com exercício

GE4 - grupo suplementado com suplementação de 0,25 g/kg/dia água destilada com exercício (placebo)

GC - grupo sem suplementação e sem exercício

Os valores de creatinina plasmática são normalmente encontrados em níveis acima do normal após exercícios intensos e prolongados, incluindo eventos como um meio Ironman, um triathlon, um short triathlon ou ainda uma maratona (103-105). Tendo em vista esta afirmação e sabendo que mesmo que estas modalidades acima apresentem uma predominância do metabolismo aeróbio, o metabolismo glicolítico mostra-se bastante presente dentro das modalidades conforme resultados do estudo que avaliou o comportamento de alguns parâmetros bioquímicos durante a simulação de um triathlon olímpico, no qual a creatinina plasmática já se apresentou elevada após a primeira modalidade, elevando-se e diferenciando-se até o final da prova (105), fator que pode ser responsável pela discordância dos achados em relação ao presente estudo.

4.6 HORMÔNIO DO CRESCIMENTO

Durante a prática de exercícios físicos ocorre a liberação de somatotrofina, especialmente em indivíduos sedentários e em exercícios de alta intensidade (106). A arginina, assim como o exercício, também estimula esta secreção, principalmente quando administrada via infusão (13, 107). Entretanto, no estudo de Collier et. al (107) 30 atletas de endurance foram divididos em grupo placebo, grupo com suplementação de baixa dose de arginina (2,8 g/dia) e grupo com suplementação de alta dose de

arginina (5,7 g/dia). Ao início e ao final das semanas de suplementação os atletas foram submetidos a um teste incremental em bicicleta ergométrica, com avaliação do hormônio do crescimento plasmático antes e após o exercício. Os resultados não apresentaram diferença significativa entre as diferentes doses de arginina e o grupo placebo (107).

Analisando os níveis séricos de hormônio do crescimento em resposta a metodologia proposta, constata-se, assim como na insulina plasmática, que este hormônio não apresentou alteração significativa ($p=0,05$) pela suplementação ou pela quantidade de arginina administrada ou pela sessão de exercício (Tabela 04).

Tabela 06 - Valores de hormônio de crescimento (ng/nL)

Grupos	Média	Desvio Padrão	n
GE1	0,06	$\pm 0,01$	8
GE2	0,05	$\pm 0,00$	8
GE3	0,05	$\pm 0,00$	8
GE4	0,05	$\pm 0,00$	8
GC	0,05	$\pm 0,00$	8

GE1 - grupo suplementado com 0,25 g/kg/dia arginina com exercício

GE2 - grupo suplementado com suplementação de 0,5 g/kg/dia arginina com exercício

GE3 - grupo suplementado com suplementação de 0,75 g/kg/dia arginina com exercício

GE4 - grupo suplementado com suplementação de 0,25 g/kg/dia água destilada com exercício (placebo)

GC - grupo sem suplementação e sem exercício

Em outro estudo realizado com 1 grupo de indivíduos jovens ($n=20$) e 1 grupo de indivíduos idosos ($n=8$), a avaliação da taxa plasmática de hormônio do crescimento foi avaliada durante o exercício de força, durante o exercício de força juntamente com a suplementação de 5g de arginina e somente com a suplementação deste aminoácido em repouso. Em todas as avaliações as concentrações plasmáticas de GH se apresentaram significativamente maiores no grupo de indivíduos jovens, entretanto, em nenhum momento avaliado, a suplementação foi capaz de promover um aumento significativo de somatotropina no sangue, mesmo na sua associação com o exercício (108).

A suplementação de arginina associada ao exercício sobre a concentração de GH plasmático também foi foco do estudo que comparou a suplementação de 7g do aminoácido associada ao exercício de força com somente o exercício de força, não encontrando diferença significativa entre os experimentos (109).

Contestando estes dados, uma pesquisa que teve como objetivo sugerir a melhor dose de arginina para a secreção GH, comparou a administração oral, em jejum, de 5 g, 9 g e 13 g de arginina em repouso, encontrou um aumento significativo na concentração plasmática e pico de GH somente com as doses de 5 e 9 g, tendo a dose de 13 g provocado desconforto gastrointestinal (107). Além disso, este estudo verificou que o aumento na quantidade de GH no sangue se inicia após 30 minutos do consumo da arginina, com pico em aproximadamente 60 min.

5. CONCLUSÃO

Nos últimos tempos, a utilização de arginina na composição de suplementos para atletas cresceu, com muitas promessas associadas, independentemente da quantidade de arginina oferecida. Desta forma, o propósito desta pesquisa foi comparar o efeito de diferentes doses de arginina sobre alguns parâmetros bioquímicos em ratos Wistar após uma sessão de 90 minutos de natação com carga de 5% fixada ao corpo do animal, com o intuito de sugerir a melhor dose a ser administrada para a otimização da performance.

O efeito dos 90 minutos de natação com 5% de carga não se mostrou suficiente para alterar significativamente nenhum dos parâmetros avaliados, entretanto, comparando ao grupo controle, apresentou uma queda na glicemia e um aumento na concentração dos compostos nitrogenados.

A menor dose de arginina utilizada durante o estudo, corresponde à suplementação de 2g de arginina em humanos, que só apresentou efeito significativo sobre o acúmulo de amônia plasmática, sendo responsável pelo segundo maior acúmulo deste composto. Com relação aos outros parâmetros avaliados, a menor dose da suplementação sempre provocou um aumento nos valores, acima do grupo placebo, demonstrando uma discreta interferência no metabolismo durante o exercício.

Já a suplementação de 0,5 g/kg/dia, correspondente a uma dose de 4g para um adulto, mostrou-se capaz de alterar ou sobrecarregar o processo de eliminação dos compostos nitrogenados (amônia e ureia), uma vez que provocou um aumento significativo nas concentrações de amônia e ureia no sangue. As concentrações plasmáticas de glicose, insulina, hormônio do crescimento e creatinina não foram significativamente atingidos por esta suplementação.

A maior quantidade de arginina suplementada, correspondente à dose de 6g para humanos, foi a única dose que elevou a glicemia a um nível estatisticamente considerado. O seu resultado sobre os compostos nitrogenados foi significativo, assim como a dose de 0,5 g/kg/dia, porém em maior amplitude. Insulina, hormônio do crescimento e creatinina não sofreram alterações devido à ingestão desta dose de aminoácido.

Portanto, os resultados deste estudo demonstram que a única dose de arginina capaz de promover algum benefício para o desempenho atlético em ratos é a dose de 6 g. Estes benefícios mostram-se muito interessante para a performance atlética humana, merecendo assim estudos nesta população, podendo ser uma boa opção para atletas que sofrem com desconfortos gástricos e intestinais como consequência do consumo de carboidratos durante o exercício. Devido ao acúmulo de compostos nitrogenados como resposta a esta suplementação, mostra-se importante a avaliação do consumo de líquidos, assim como evitar a sua suplementação acompanhada de aminoácidos de cadeia ramificada. Por fim, sugere-se que novos estudos sejam realizados combinando a suplementação de arginina com os intermediários do ciclo da ureia, na tentativa de reduzir o acúmulo de amônia e ureia plasmática, além de se investigar melhor a ação da suplementação de arginina sobre a cinética da insulina durante a realização de exercícios.

REFERÊNCIAS

1. Rose WC, Haines WJ, Waner DT. The amino acid requirements of man. V. The role of lysine, arginine and tryptophan. *J Biol Chem* 1954; 206, 421-430.
2. Saito H, Trocki O, Wangs SL, Gonce Su, Joffe SN, Alexander JW. Metabolic and immune effects of dietary arginine supplementation after burn. *Arch Surg* 1987; 122: 784-789.
3. Campbell B, La Bountry PM, Roberts M. The Ergogenic Potential of Arginine. *J Int Society of Sports Nutr* 2004; 1(2): 35-38.
4. Wu G, Meininger CJ. Arginine Nutrition and Cardiovascular Function. *J Nutr* 2000; 130: 2626-2629.
5. Meneguelo MO, Mendonça JR, Lancha AH, Costa Rosa LFBP. Effect of arginine, ornithine and citrulline supplementation upon performance and metabolism of trained rats. *Cell Biochem Funct* 2003; 21: 85-91.
6. Kohli L, Meininger CJ, Haynes TE, Yan W, Self JT, Wu G. Dietary L-Arginine Supplementation Enhances Endothelial Nitric Oxide Synthesis in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *J Nutr* 2004; 134: 600-608.
7. Colombani PC, Bitzi R, Frey-Rindova P, Frey W. Chronic arginine aspartate supplementation in runners reduces total plasma amino acid level at rest and during a marathon run. *Eur J Nutr* 1999; 38: 263-70.
8. Elam RP, Hardin DH, Sutton RA, Hagen L. Effects of arginine and ornithine on strength, lean body mass and urinary hydroxyproline in adults males. *J Sports Med Phys Fitness* 1989; 29(1): 52-56.
9. Ceremuzynski L, Chamiec T, Herbaczynska-Cedro K. Effect of supplemental oral L-arginine on exercise capacity in patients with stable angina pectoris. *Am J Cardiol* 1997; 80: 331-333.
10. Witte MB, Barbul A. Arginine physiology and its implication for wound healing. *Wound Repair Regen* 2003; 11: 419-423.

11. Wu G, Morris SM Jr. Arginine metabolism: nitric oxide and beyond. *Biochem J* 1998; 336: 1-17.
12. Tong BC, Barbul A. Cellular and physiological effects of arginine. *Mini Reviews in Medicinal Chemistry* 2004; 4(8): 823-832.
13. Barbul A. Arginine: biochemistry, physiology, and therapeutic implications. *J Parent Ent Nutr* 1986; 10: 227-238.
14. Chromiak JA, Antonio J. Use of amino acids as growth hormone-releasing agents by athletes. *Nutrition* 2002; 18(7/8): 657-661.
15. Reyes AA, Karl IE, Klahr S. Role of arginine in health and in renal disease. *Am J Physiol* 1994; 267, F331-346.
16. Blachier F, M'rabet-Touil H, Posho L, Darcy-Vrillon B, Duee PH. Intestinal arginine metabolism during development. Evidence for de novo synthesis of L-arginine in newborn pig enterocytes. *Eur J Biochem* 1993; 216: 109-117.
17. Wu G, Knabe DA, Yan W, Flynn NE. Glutamine and glucose metabolism in enterocytes of the neonatal pig. *Am J Physiol* 1995; 268: R334-R342.
18. De Jonge WJ, Dingemanse MA, De Boer PA, Lamers WH, Moorman AFM. Arginine-metabolizing enzymes in the developing rat small intestine. *Pediatr Res* 1998; 43: 442-451.
19. Wu G, Knabe DA. Arginine synthesis in enterocytes of neonatal pigs. *Am J Physiol* 1995; 269: R621-R629.
20. Wu G, Knabe DA, Flynn NE. Synthesis of citrulline from glutamine in pig enterocytes. *Biochem J* 1994; 299: 115-121.
21. Windmueller HB, Spaeth AE. Intestinal metabolism of glutamine and glutamate from the lumen as compared to glutamine from blood. *Arch Biochem Biophys* 1975; 171: 662-672.
22. Stoll B, Henry J, Reeds PJ, Yu H, Jahoor F, Burrin DG. Catabolism Dominates the First-Pass Intestinal Metabolism of Dietary Essential Amino Acids in Milk Protein-Fed Piglets. *J Nutr* 1998; 128: 606-614.
23. Matthews DE, Marano MA, Campbell RG. Splanchnic bed utilization of glutamine and glutamic acid in humans. *Am J Physiol* 1993; 264: E848-E854.

24. Wu G. Intestinal Mucosal Amino Acid Catabolism. *J Nutr* 1993; 128: 1249-1252.
25. Berthold HK, Reeds PJ, Klein PD. Isotopic evidence for the differential regulation of arginine and proline synthesis in man. *Metabolism Clin Exp Metab* 1995; 44:466-473.
26. Castillo L, Beaumier L, Ajami AM, Young VR. Whole body nitric oxide synthesis in healthy men determined from [¹⁵N]arginine-to-[¹⁵N]citrulline labeling. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 11460-11465.
27. Windmueller HG, Spaeth AE. Source and fate of circulating citrulline. *Am J Physiol* 1981; 241: E473-E480.
28. Paddon-Jones D, Borsheim O, Wolte RR. Potential Ergogenic Effects of Arginine and Creatine Supplementation. *J Nutr* 2004; 134: 2888S-2894S.
29. Merimee TJ, Rabinowitz D, Riggs L, Burgess JA, Rimoin DL, Mckusick VA. Plasma growth hormone after arginine infusion. Clinical experiences. *N Engl J Med* 1967; 276: 434-439.
30. Fisher S, Nielsen S, Ebdrup L, Bech JN, Christiansen JS, Pedersen EB, Jorgensen JO. The role of nitric oxide in L-arginine stimulated growth hormone release. *J Endocrinol Invest* 1999; 22: 89-93.
31. Fisher S, Nielsen S, Ebdrup L, Bech JN, Christiansen JS, Pedersen EB, Jorgensen JO. L-arginine-induced growth hormone secretion is not influenced by co-infusion of the nitric oxide synthase inhibitor N-monomethyl-L-arginine in healthy men. *Growth Horm IF Res* 1999; 9: 69-73.
32. Merimee TJ, Rabinowitz D, Fineberg SE. Arginine-initiated release of human growth hormone. Factors modifying the response in normal man. *N Engl J Med* 1969; 280(26): 1434-8.
33. Hembree WC, Ross GT. Arginine infusion and growth-hormone secretion. *Lancet* 1969; 1(7584): 52.
34. Giugliano D, Marffaele R, Verrazzo G, Acampora R, Coppola L, Cozzolino D, D'onofrio F. The Vascular Effects of L-Arginine in Humans The Role of Endogenous Insulin. *J Clin Invest* 1997; 99(3): 433-438.
35. Napoli C, Williams-ignarro S, Nigris F, Lerman LO, Rossi L, Guarino C, Mansueto G, Di Tuoro F, Pignalosa O, De Rosa G, Sica V, Ignarro LJ. Long-term combined beneficial effects of physical training and metabolic treatment on atherosclerosis in hypercholesterolemic mice. *The National Academy of Sciences of the USA* 2004; 8(101), 23: 8797-8802.

36. Besset A, Bonardet A, Rondouin G, Descomps B, Passouant P. Increase in sleep related GH and Pri secretion after chronic arginine aspartate administration in man. *Acta Endocrinol (Copenh.)* 1982; 99: 18-23.
37. Isidori A, Lo Monaco A, Cappa M. A study of growth hormone release in man after oral administration of amino acids. *Curr Med Res Opin* 1981; 7 (7): 475-481.
38. Hultman E, Bergstrom J, McLennan-anderson N. Breakdown and resynthesis of phosphorylcreatine and adenosine triphosphate in connection with muscular work in man. *Scand J Clin Lab Invest* 1967; 19:56-66.
39. Kaelsson J, Diamant B, Saltim B. Muscle metabolites during submaximal and maximal exercise in men. *Scand J Clin Lab Invest* 1971; 26: 385-394.
40. Vandenberghe K, Goris M, Van Heck P, Van Leemputte M. Long-term creatine intake is beneficial to muscle performance and pharmacokinetic considerations. *J Appl Physiol* 1997; 83: 2055-2063.
41. Volek JS, Duncan ND, Mazzetti SA, Putukian M. Performance and muscle fiber adaptations to creatine supplementation and heavy resistance training. *Med Sci Sports Exerc* 1999; 31: 1147-1156.
42. Terjung RL, Clarkson P, Eichner R, Greenhaff PL, Hespel PJ, Israel RG, Kramer WJ, Meyer RA, Lawrence LS, Tarnopolsky MA, Wagenmakers AJM, Williams MH. Physiological and health effects of oral creatine supplementation. *Med Sc Sports Exec* 2002; 32: 706-717.
43. Vandenberghe K, Goris M, Van Heck P, Van Leempute M, Vangerven L, Hespel P. Long-term creatine intake is beneficial to muscle performance during resistance training. *J Appl Physiol* 1997; 83: 2055-2063.
44. Volek JS, Kramer WJ. Creatine supplementation: its effect on human muscular performance and body composition. *J Strenath and Conditioning Res* 1996; 10: 200-210.
45. Hurwitz R, Kretchmer N. Development of arginine- synthesizing enzymes in mouse intestine. *Am J Physiol* 1986; 251: G103-G110.
46. Dhanakoti SN, Brosnan J, Brosnan ME, Herzberg GR. Net renal arginine flux in rats is not affected by dietary arginine or dietary protein intake. *J Nutr* 1992; 122: 1127-1134.
47. Castillo L, Chapman TE, Sanchez M, Yu YM, Burke JF, Ajami AM, Vogt J, Young VR. Plasma arginine and citrulline kinetics in adults given adequate and arginine-free diets. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 7749-7753.

48. Morrow NA. Arginine Metabolism in Enterocytes of Diabetic Rats. Master of Science thesis. Texas A&M University; 2002. College Station.
49. Maxwell AJ, Cooke JP. Cardiovascular effects of L-arginine. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 1998; 7: 63-70.
50. Wu G, Flynn NE, Flynn SP, Jolly CA, Davis PK. Dietary protein or arginine deficiency impairs constitutive and inducible nitric oxide synthesis by young rats. *J Nutr* 1999; 129: 1347-1354.
51. Tidball JG, Lavergne E, Lau KS, Spencer MJ, Stull JT, Wehling M. Mechanical loading regulates NOS expression and activity in developing and adult skeletal muscle. *Am J Physiol* 1998; 275: C260-G266.
52. Pieper GM, Dondlinger LA. Plasma and vascular tissue arginine are decreased in diabetes: Acute arginine supplementation restores endothelium-dependent vasodilatation by augmenting cGMP production. *J Pharmacol Exp Ther* 1997; 283: 684-691.
53. De Castro Barbosa T, Poyares L, Machado FU, Nunes MT. Chronic oral administration of arginine induces GH gene expression and insulin resistance. *Life Sci* 2006; 79(15): 1444-1449.
54. Boger RH, Bode-Boger SM. The clinical pharmacology of L-arginine. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2001; 41: 79-99.
55. Maxwell AJ, Ho HV, Le CQ, Lin PS, Bernstein D, Cooke JP. L-arginine enhances aerobic exercise capacity in association with augmented nitric oxide production. *J Appl Physiol* 2001; 90: 933-993.
56. Roberts CK, Barnard RJ, Jasman A, Balon TW. Acute exercise increases nitric oxide synthase activity in skeletal muscle. *Am J Physiol* 1999; 277: E390-E394.
57. Steinberg HO, Brechtel G, Johnson A, Fineberg N, Baron AD. Insulin-mediated skeletal muscle vasodilation is nitric oxide dependent. A novel action of insulin to increase nitric oxide release. *J Clin Invest* 1994; 94: 1172- 1179.
58. Trovati M, Massucco P, Mattiello L, Cavalot F, Mularoni E, Hann A, Anfossi G. Insulin increases cyclic nucleotide content in human vascular smooth muscle cells: a mechanism potentially involved in insulin induced modulation of vascular tone. *Diabetologia* 1995; 38: 936-941.
59. Trovati M, Massucco P, Mattiello L, Piretto V, Cavalot F, Mularoni E, Anfossi G. The insulin-induced increase of guanosine-3',5'-cyclic monophosphate in human platelets is mediated by nitric oxide. *Diabetes* 1996; 45: 768-770.

60. Balon TW, Nadler JL. Nitric oxide is present from incubated skeletal muscle preparations. *J Appl Physiol* 1994; 77: 2510-2521.
61. Constable SH, Favier RJ, Cartee GD, Young DA, Holloszy JO. Muscle glucose transport: interactions of in vitro contractions, insulin, and exercise. *J Appl Physiol* 1988; 64: 2329- 2332.
62. Wu G, Kelly KA, Hatakeyama H, Meininger CJ. LArginine increases tetrahydrobiopterin synthesis in endothelial cells (EC): An explanation of the arginine paradox for nitric oxide synthesis. *FASEB J* 2003; 17: A 125.
63. Salt IP, Morrow VA, Brandie FM, Connell JMC, Petrie JR. High glucose inhibits insulin-stimulated nitric oxide production without reducing endothelial nitric-oxide synthase Ser(1177) phosphorylation in human aortic endothelial cells. *J Biol Chem* 2003; 278: 18791-18798.
64. Calver A, Collier J, Vallance PJ. Inhibition and stimulation of nitric oxide synthesis in the human forearm arterial bed of patients with insulin-dependent diabetes. *J Clin Invest* 1992; 90: 2548-2554.
65. Young ME, Radda K, Leighton B. Nitric oxide stimulates glucose transport and metabolism in rat skeletal muscle in vitro. *Biochem J* 1997; 322: 223-228.
66. Flynn NE, Meininger CJ, Haynes TE, Wu G. The metabolic basis of arginine nutrition and pharmacotherapy. *Biomed Pharmacother* 2002; 56: 427-438.
67. Devita VT. Principles of Chemotherapy. In DeVita, Hellman & Rosenberg (eds.) *Cancer: Principles & Practice of Chemotherapy*; 1993.
68. Azevedo JRM. Determinação de parâmetros bioquímicos em ratos sedentários e treinados, durante, após exercício agudo de natação. Tese de Doutorado; 1994. Campinas: UNICAMP.
69. Gobatto CA, Mello MAR, Sibuya CY, Azevedo JRM, Santos LA, Kokubun E. Maximal lactate steady state in rats submitted to swimming exercise. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A* 2001; 130: 21-27.
70. Davis JM. Carbohydrates, branched-chain amino acids, and endurance: the central fatigue hypothesis. *International Journal of Sport Nutrition* 1995; 5: 29-38.
71. Jakeman PM. Amino acid metabolism, branched chain amino acid feeding and brain monoamine function. *Proceedings of the Nutrition Society* 1998; 57: 35-41.
72. Rossi L, Tirapegui J. Aspectos atuais sobre exercício físico, fadiga e nutrição. *Rev Pau. Edu. Fis* 1999; 13(1): 67-82.

73. Leninger AL, Nelson DL, Cox MM. *Principios de bioquímica*. 3 ed. São Paulo: Savier; 2002.
74. McConell GK, Hunh NN, Lee-Young RS, Canny BJ, Wadley GD. L-Arginine infusion increases glucose clearance during prolonged exercise in humans. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2006; 290: E60-E66.
75. Jenkins AB, Chisholm DJ, James DE, Ho KY, Kraegen EW. Exercise-induced hepatic glucose output is precisely sensitive to the rate of systemic glucose supply. *Metabolism* 1985; 34: 431-436.
76. Paolisso G, Tagliamonte MR, Marfella R, Verrazzo G, D'Onofrio F, Giugliano D. L-arginine but not D-arginine stimulates insulin-mediated glucose uptake. *Metabolism* 1997; 46(9):1068-1073.
77. Bratusch-Marrain P, Bjorkman O, Hagenfeldt L, Waldhausl W, and Wahren J. Influence of arginine on splanchnic glucose metabolism in man. *Diabetes* 1979; 28: 126-131.
78. Robinson TM, Sewell DA, Greenhaff PL. L-Arginine ingestion after rest and exercise: effects on glucose disposal. *Med Sci Sports Exerc* 2003; 35(8): 1309-1315.
79. Parry-Billings M, Blomstrand E, MoAndrew N, Newsholme EA. A communicational link between skeletal muscle, brain, and cells of the immune system. *International Journal of Sports Medicine* 1990; 11(2): S122-128.
80. Goyle EF, Hagberg JM, Hurley BF, Martin WH, Ehsani AA, Holloszy JO. Carbohydrate feeding during prolonged strenuous exercise can delay fatigue. *J Appl Physiol* 1983; 55: 230-235.
81. Coggan AR, Coyle EF. Reversal of fatigue during prolonged exercise by carbohydrate infusion or ingestion. *J Appl Physiol* 1988; 65: 1703-1709.
82. Coggan AR, Coyle EF. Effect of carbohydrate feedings during high-intensity exercise. *J Appl Physiol* 1988; 65: 1703-1709.
83. Angus DJ, Febbraio MA, Hargreaves M. Plasma glucose kinetics during prolonged exercise in trained humans when fed carbohydrate. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2002; 283: E573 - E577.
84. McArdle WD, Katch FI, Katch VL. *Fisiologia do exercício. Energia, Nutrição e Desempenho Humano*. 5 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2001.
85. Canali ES, Krueel LFM. Respostas hormonais ao exercício. *Rev Paul Educ Fis* 2001; 15(2): 141-153.

86. Floyd CF, Fajans SS, Conn JW, Knopf RF, Rull J. Stimulation of insulin secretion by amino acids. *J Clin Invest* 1966; 45:1487-1502.
87. Banister EW, Cameron BJ. Exercise induced hyperammonemia: peripheral and central effects. *International Journal of Sports Medicine* 1990; 11(2): S129-142.
88. MacLaren DPM, Reily T, Campbell IT, Hopkin C. Hormonal and metabolic responses to maintained hyperglycemia during prolonged exercise. *J appl Physiol* 1999; 87: 124-131.
89. Guezennec CY, Abdelmalki A, Serrurier B, Merino D, Bigard X, Berthelot M, Pierard G, Peres M. Effects of prolonged exercise on brain ammonia and amino acids. *Int J Sports Med* 1998; 19: 323-327.
90. Nybo L, Secher NH. Cerebral perturbations provoked by prolonged exercise. *Prog Neurobiol* 2004; 72(4): 223-261.
91. Buono MJ, Clancy TR, Cook JR. Blood lactate and ammonium ion accumulation during graded exercise in humans. *J Appl Physiol* 1984; 57: 135-139.
92. Babij P, Matthews SM, Rennie MJ. Changes in blood ammonia, lactate and amino acids in relation to workload during bicycle ergometer exercise in man. *Eur J Appl Physiol* 1983; 50(3): 405-411.
93. Nieves C Jr, Siren HIS, Herrlinger-Garcia KA, Langkamp-Henken B. Pharmacologic Levels of Dietary Arginine in CB6F1 Mice Increase Serum Ammonia in the Healthy State and Serum Nitrite in Endotoxemia. *J Parenter Enter Nut* 2007; 31(2): 101-108.
94. Eto B, Peres G, Le Mol G. Effects of an ingested glutamate arginine salt on ammonemia during and after long lasting cycling. *Arch Int Physiol Biochim Biophys* 1994; 102(3): 161-162.
95. MacLean DA, Graham TE, Saltin B. Branched-chain amino acids augment ammonia metabolism while attenuating protein breakdown during exercise. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 1994; 267: E1010-E1022.
96. Pardridge WM, Duducgian-Vartavarian L, Casanello-Ertl D, Jones MR, Kopple JD. Arginine metabolism and urea synthesis in cultured rat skeletal muscle cells. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 1982; 242: E87 - E92.
97. Calles-Escandon J, Cunningham JJ, Snyder P, Jacob R, Huszar G, Loke J, Felig P. Influence of exercise on urea, creatinine, and 3-methylhistidine excretion in normal human subjects. *J Appl Physiol* 1984; 56: 221-229.

98. Beaumier L, Castillo L. Urea cycle intermediate kinetics and nitrate excretion at normal and "therapeutic" intakes of arginine in humans. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 1995; 269: E884-E896.
99. Guerra I, Soares EA, Burini RC. Aspectos nutricionais do futebol de competição. *Rev Bras Med Esporte* 2001; 7(6): 200-206.
100. NCCLS. Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices: Approved guidelines. USA; 1999.
101. Clerico A, Giammattell C, Cecchini L, Lucchetti A, Cruscheill L, Penno G, Gregori G, Giampietro O. Exercise-induced proteinuria in well-trained athletes. *Clinical Chemistry* 1990; 36: 562-564.
102. Hickson JF, Hinkelmann K. Exercise and protein intake effects on urinary 3 methylhistidine excretion. *Am J Clin Nutr* 1985; 41: 246-253.
103. Reid SA, Speedy DB, Thompson JMD, Noakes TD, Mulligan G, Page T, Campbell RGD, Milne C. Study of hematological and biochemical parameters in runners completing a standard marathon. *Clin J Sport Med* 2004; 14 (6): 344-353.
104. Warburton DER, Welsh RG, Haykowsky MJ, Taylor DA, Humen DP. Biochemical changes as a result of prolonged strenuous exercise. *Br J Sports Med* 2002; 36: 301-303.
105. Lopes RF. Comportamento de alguns marcadores fisiológicos e bioquímicos de uma prova de triathlon olímpico (Dissertação). Curitiba: Universidade Federal do Paraná; 2006.
106. Kanaley JA, Weltman JY, Velduis JD, Rogol AD, Hartman ML, Weltman A. Human growth hormone response to repeated bouts of aerobic exercise. *J Appl Physiol* 1997; 83: 1756-1761.
107. Collier SR, Casey DP, Kanaley JA. Growth hormone responses to varying doses of oral arginine. *Growth Horm IGF Res* 2005; 15(2): 136-139.
108. Marcell TJ, Taaffe DR, Hawkins SA, Tarpenning KM, Pyka G, Kohlmeier L, Wiswell RA, Marcus R. Oral arginine does not stimulate basal or augment exercise-induced GH secretion in either young or old adults. *Biol Sci Medical Sci* 1999; 54(8): M395-M399.
109. Collier SR, Collins E, Kanaley JA. Oral arginine attenuates the growth hormone response to resistance exercise. *J Appl Physiol* 2006; 101: 848-852.

APÊNDICE 1

Parecer de aprovação do Comitê de Ética do Setor de Ciências Biológicas da
Universidade Federal do Paraná



Ministério da Educação
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
Setor de Ciências Biológicas
Comitê de Ética em Experimentação Animal (CEEA)



CERTIFICADO N.º 206

O Comitê de Ética em Experimentação Animal (CEEA) do Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná, instituído pela PORTARIA N.º 787/03-BL, de 11 de junho de 2003, com base nas normas para a constituição e funcionamento do CEEA, estabelecidas pela RESOLUÇÃO N.º 01/03-BL, de 09 de maio de 2003, e considerando o contido no Regimento Interno do CEEA, **CERTIFICA** que os procedimentos que utilizam animais no projeto de pesquisa abaixo especificado estão de acordo com os princípios éticos estabelecidos pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e exigências estabelecidas em "Guide for the Care and Use of Experimental Animals (Canadian Council on Animal Care)".

APROVADO.

PROCESSO: 23075. 055077/2006-42

RO 01/2007 - 31/01/2007

TÍTULO: Efeito agudo da suplementação de diferentes doses de arginina sobre alguns parâmetros bioquímicos após exercício de longa duração em ratos

AUTORES: Raul Osiecki, Paula Gracia Koppe, Ricardo Cunha

DEPARTAMENTO: Educação Física

Curitiba, 01 de fevereiro de 2007.

Prof.ª Ana Maria Caliman Filadelfi
Coordenadora do CEEA
