Suplementação com β -alanina: ação nas reservas glicogênicas musculares e no perfil eletrocardiográfico de ratas

Supplementation with β -alanine: action in muscle glycogen reserves and electrocardiographic profile

RESUMO Um recurso ergogênico que tem sido alvo de estudos é a β -alanina, frente à sua capacidade de promover melhora no desempenho atlético. O objetivo deste trabalho foi avaliar as reservas glicogênicas (GLI) dos músculos ventrículo (V), diafragma (D) e peitoral (P), além de parâmetros eletrocardiográficos em ratas tratadas com β -alanina. Foram utilizadas 15 ratas Wistar jovens, submetidas a cuidados ideais de bioterismo, divididas em grupos denominados controle (C), tratados com β -alanina por 7 dias (A7) e por 15 dias (A15). Os grupos tratados receberam a β -alanina (Beta Cálcio Alanine*) disponível na água para beber na concentração de 1,8%. Dentro do período experimental, os animais foram anestesiados e os segmentos ST e QT captados (Heart Ware System*); a seguir, os animais foram eutanasiados e os músculos coletados para a avaliação das GLI. Os dados foram avaliados por meio de Anova one way e Teste de Tukey, $p < 0,05$. No grupo A7, o ST e QT foram mais lentos se comparados ao C, e no grupo A15 foram mais rápidos se comparados ao C e A7 ($p < 0,05$), indicando que a β -alanina pode modificar a condutância elétrica no músculo cardíaco. O GLI também foi modificado, sendo observado que nos músculos P e D houve aumento progressivo do 7º. a 15º. dia de suplementação, condição não observada no V, cujo aumento do GLI ocorreu significativamente no 15º. dia. Os dados indicam que a β -alanina pode modificar a condução elétrica no ECG e indiretamente promover elevação nas reservas de glicogênio, por ser secretagogo da insulina.

PALAVRAS-CHAVE: BETA-ALANINA. SUPLEMENTAÇÃO. ELETROCARDIOGRAFIA.

ABSTRACT An ergogenic resource that has been the target of studies is β -alanine, against its ability to promote improvement in athletic performance. The objective of this study was to evaluate the muscular glycogen reserves (GLI) represented by the ventricle (V), diaphragm (D) and pectoral (P), as well as electrocardiographic parameters in rats treated with β -alanine. Fifteen young female Wistar rats submitted to optimal bioterism care were used and were divided into groups called Control (C), treated with beta alanine for 7 days (A7) and treated for 15 days (A15). The treated groups received β -alanine (Beta Calcium Alanine*) available in drinking water at the concentration of 1.8%. Within the experimental period, the animals were anesthetized and the ST and QT segments captured (Heart Ware System*); then the animals were euthanized and the muscles collected for GLI assessment. The data were evaluated through Anova one way and Tukey test, $p < 0.05$. In group A7, ST and QT were slower compared to C, and in group A15 they were faster compared to C and A7 ($p < 0.05$), indicating that β -alanine may modify electrical conductance in cardiac muscle. The GLI was also modified, and it was observed that in P and D muscles, there was a progressive increase of the 7th to 15th day of supplementation, a condition not observed in the V, whose GLI increase occurred significantly on the 15th day. The data indicate that β -alanine can modify electrical conduction on ECG and indirectly promote elevation in glycogen reserves, because it is an insulin secretagogue.

Key-words: Beta alanine. Supplementation. Electrocardiography.

LUIS CARLOS ALVES JÚNIOR¹
PATRICIA CARLA PAULINO
BELOTTO¹
ADRIANA PERTILLE¹
CARLOS ALBERTO SILVA¹
¹Universidade Metodista de Piracicaba (UNIMEP), Piracicaba/SP – Brasil.

Os autores declaram que não há conflito de interesse

INTRODUÇÃO

Os novos indicadores de qualidade de vida, atribuem ao binômio controle da dieta e atividade física como sendo ímpar na qualidade de vida. Atletas e praticantes de atividade física buscam não somente um corpo esteticamente perfeito, mas o aprimoramento da performance, vinculando ao binômio um terceiro fator, ou seja, o uso de suplementos ergogênicos.¹

Frente ao crescente aumento na população que consome suplementos alimentares, o mercado disponibiliza muitas substâncias e as indica sem distinção, prometendo melhorar o desempenho e a resistência na prática da atividade física, promover aumento na massa muscular e reduzir a gordura corporal, assim, o consumidor poderia ao mesmo tempo melhorar a estética corporal e o seu desempenho desportivo.²

Dentro de um perfil metabólico, a musculatura esquelética utiliza preferencialmente a glicose como substrato energético, cuja captação é modulada pela ação insulínica podendo ser oxidada ou direcionada para a formação de reservas glicogênicas. Merece destacar que, o músculo cardíaco é um tecido que apresenta ajustes constantes, necessitando tanto do suprimento ideal de oxigênio quanto do oferecimento de substratos metabolizáveis, para que haja homeostasia funcional.³

Um recurso ergogênico que tem sido estudado pela comunidade científica é a β -alanina, que é o precursor da síntese de carnosina, composto presente no citosol, o qual propicia melhora no desempenho na prática de atividade física.⁴ Nesse contexto, é consenso que o tecido muscular esquelé-

tico e o cardíaco dependem impreterivelmente da β -alanina produzida no fígado ou captada pelo trato gastrointestinal para que sintetizem a carnosina.⁵ No que se refere ao mecanismo de ação, tem sido demonstrado que a carnosina é um agente regulador da movimentação de cálcio no retículo sarcoplasmático, controlando diversas respostas cálcio dependentes na musculatura esquelética, além de atuar como antioxidante e redutor da fadiga por tamponar o hidrogênio produzido frente ao aumento na contração muscular.⁵

Entre diferentes metodologias utilizadas na avaliação das funções cardíacas, o eletrocardiograma (ECG) é um método de fácil execução e rotineiramente empregado no diagnóstico de doenças cardiovasculares, tanto no homem quanto em estudos com animais de experimentação, visto que a eficiência do registro eletrocardiográfico apresenta-se como fidedigna no diagnóstico de alterações funcionais da musculatura cardíaca, ancorado no fato de uma série de alterações funcionais refletirem as mudanças na propagação do potencial de ação e, por conseguinte, nas ondas e respectivos segmentos.

Na literatura, existem diferentes análises vinculadas à ação da suplementação com β -alanina e respostas adaptativas no músculo esquelético, principalmente com referencial na melhora da performance, aumentando o tempo para atingir a fadiga. No entanto, não há estudos indicando se o comportamento elétrico cardíaco, bem como, as reservas glicogênicas tanto do ventrículo quanto de músculos que participam do trabalho respiratório se modificam frente ao tratamento com β -alanina. Assim, o objetivo deste estu-

do foi analisar as reservas glicogênicas dos músculos ventrículo, diafragma e peitoral, além de parâmetros eletrocardiográficos em ratas tratadas com β -alanina.

MÉTODOS

Foram utilizadas 15 ratas Wistar com dois meses de idade (peso médio 220 ± 20 g), as quais foram alojadas em gaiolas coletivas e mantidas em condições ideais de bioterismo. Os animais foram divididos em três grupos experimentais ($n=5$ /cada) e denominados de: controle (C), tratado com β -alanina por 7 dias (A7), tratado com β -alanina por 15 dias (A15). Os grupos tratados receberam a β -alanina (Beta Cálcio Alanine®) disponível na água para beber na concentração de 1,8%.⁶ Após o período experimental, as ratas foram anestesiadas com mistura de cloridrato de cetamina (1,16 g/10 mL) e cloridrato de xilazina (2 g/100 mL), na proporção de 3:2, em dose de 0,09 e 0,06 mL/100g de massa corporal e o sinal eletrocardiográfico (ECG) foi captado através do sistema Heart Ware System®. A seguir, as ratas foram eutanasiadas por aprofundamento anestésico seguido de concussão cerebral e as amostras dos músculos peitoral (P), diafragma (D) e ventrículo (V) foram coletadas e encaminhadas

para análise do conteúdo de glicogênio (GLI) através do método colorimétrico do fenol sulfúrico.⁷ Esse experimento foi aprovado pela CEUA/UNIMEP, segundo protocolo 02/2017. Na análise estatística, foi utilizado ANOVA one way, seguido do Teste de Tukey, $p < 0,05$.

RESULTADOS

A análise do ECG mostrou que o segmento eletrocardiográfico ST do grupo A7 apresentou-se 50% maior se comparado ao C, enquanto que no grupo A15 os valores foram 37,5% menores do que o observado no C e 57% menor se comparado ao A7 ($p < 0,05$). Com relação ao do segmento QT registrado no ECG, foram verificados no grupo A7 valores 20% maiores que o C, e no grupo A15 os valores foram 35% menores que A7 e 196% menores que C ($p < 0,05$). Os dados indicam que o tratamento com β -alanina altera o comportamento elétrico do coração representado no ECG, promovendo redução na condução nos primeiros sete dias e elevação aos 15 dias de tratamento (Tabela 1).

Na avaliação do conteúdo de glicogênio (GLI), foi verificado que não houve modificação nas reservas ventriculares no grupo

Tabela 1. Padrão eletrocardiográfico nos segmentos ST e QT (ms) nos grupos experimentais controle (C), tratado com β -alanina durante sete dias (A7) e tratado com β -alanina durante 15 dias (A15). Os valores correspondem à média $\pm$ dp, $n=5$.

Tempo (ms)	C	A7	A15
Segmento ST	32 ± 2	$48 \pm 8^*$	$20 \pm 4^{*,\#}$
Segmento QT	98 ± 10	$121 \pm 4^*$	$79 \pm 8^{*,\#}$

* $p < 0,05$ comparado ao controle, # $p < 0,05$ comparado ao A7. Anova one way

A7, no entanto, no grupo A15 foi observado que as reservas de GLI estavam 70% maiores se comparado aos grupos C e A7 ($p<0,05$). Nos músculos D e P, o efeito do tratamento foi diferenciado, uma vez que, no D do grupo A7, as reservas foram 21% maiores se comparado ao C e no grupo A15 as reservas foram 43% maiores que o C e 18% maiores que A7 ($p<0,05$). O músculo P teve comportamento similar ao D, apresentando reservas de GLI, 74% maiores se comparado ao C, enquanto no grupo A15 as reservas foram 263% maiores que o C e 109% maiores que A7 ($p<0,05$, Tabela 2).

DISCUSSÃO

O consumo de suplementos alimentares tem sido alvo de atletas e praticantes de atividade física na busca pela melhor performance e aparência física.⁸ Pesquisadores e professores têm se preocupado pelo modismo que envolve o consumo de suplementos, onde grande parte da população ignora os riscos que eles podem causar, bem como, os limites cujo consumo torna-se abusivo.⁹

Atenção especial deve ser direcionada a possíveis efeitos dos suplementos na atividade cardíaca, principalmente quando

se utiliza substâncias que atuam no citosol e promovem modificações em parâmetros bioquímicos, como é o caso da β -alanina. No que se refere à captação dessa substância, tem sido demonstrado que os cardiomiócitos apresentam transportadores de membrana que transferem ao citosol tanto a β -alanina quanto a taurina, indicando o aporte facilitado da β -alanina concomitante à elevação na concentração plasmática.^{10,11}

As alterações nos parâmetros eletrocardiográficos observadas nos grupos tratados com β -alanina mostraram redução na temporização dos segmentos eletrocardiográficos ST e QT, indicando que o suplemento lentificou a propagação do sinal elétrico nas câmaras cardíacas, fato que pode indicar modificação na condutância iônica nas vias ativadoras das câmaras cardíacas, ou ainda aventa-se a hipótese que o suplemento pode ter modificado as dinâmicas fisiológicas que controlam a homeostasia do nódulo sinusal.

Um estudo realizado com átrio isolado (*in vitro*) avaliou o efeito da β -alanina na neurotransmissão pre-sináptica moduladora do nódulo sino atrial e foi observada redução na atividade cronotrópica, induzido pela menor secreção de noradrenalina, indicando que a β -alanina pode atuar enquan-

Tabela 2. Concentração muscular de glicogênio (mg/100mg) nos diferentes grupos experimentais controle (C), tratado com β -alanina durante sete dias (A7) e tratado com β -alanina durante 15 dias (A15). Os valores correspondem à média $\pm$ dp, n=5.

Músculo	C	A7	A15
Ventrículo	0,26 $\pm$ 0,01	0,27 $\pm$ 0,01	0,46 $\pm$ 0,03 *
Diafragma	0,28 $\pm$ 0,01	0,34 $\pm$ 0,02 *	0,40 $\pm$ 0,01 *,#
Peitoral	0,19 $\pm$ 0,03	0,33 $\pm$ 0,008 *	0,69 $\pm$ 0,04 *,#

* $p<0,05$ comparado ao controle, # $p<0,05$ comparado ao A7. Anova one way

to moduladora da porção autonômica que inerva o músculo cardíaco.¹² Este estudo acompanha esta proposta, uma vez que foi verificada menor velocidade de propagação nos sete primeiros dias da suplementação como demonstrado na análise dos segmentos ST e QT.

No tratamento durante quinze dias, foi observada redução na temporização dos segmentos e nos leva a aventar a hipótese que se trata de ajustes funcionais frente à predominância de um estímulo que promove alteração na temporização dos segmentos do ECG. Possivelmente, é o suplemento atuando no controle autonômico cardíaco e modificando o comportamento do ECG, na fase aguda, para que possa promover, a longo prazo, um “feedback”, ajustando o comportamento do nóduo.¹³

É incontestável o fato da carnosina exercer importante ação cardioprotetora, uma vez que previne a peroxidação lipídica e promove redução na concentração de radicais livres, no entanto, apresenta ação mobilizadora de cálcio no músculo cardíaco, fato que indica sua importante ação na condutância iônica.^{15,16} Uma vez que a concentração muscular de carnosina ocorre a longo prazo, frente à suplementação com β -alanina, é sugestivo que haja respostas distintas em diferentes tecidos e que podem ser dissociadas e hierarquicamente definidas.¹⁷

Na avaliação do padrão metabólico, foi observado aumento nas reservas glicogênicas (GLI), concomitante à progressão dos dias de suplementação, diferenciando quanto à porcentagem do 7º. ao 15º. dia e com predomínio nos músculos diafragma e peitoral, o último em maior intensidade. Um fato a se reforçar é que a suplementação

com β -alanina promove aumento na concentração citosólica de carnosina, composto que é sintetizado preferencialmente a partir da β -alanina ingerida na dieta e se apresenta em alta concentração no tecido muscular e no cardíaco.¹⁴

Nesse aspecto, tem sido descrito que esse dipeptídeo é encontrado em maior concentração nos músculos tipo II e promove ações diferenciadas e ligadas à regulação na mobilização de cálcio e coordenação de vias metabólicas.^{18,19} As maiores concentrações de GLI observadas nos músculos diafragma e peitoral podem refletir uma ação indireta da β -alanina, a qual tem a capacidade de aumentar a massa de células β -pancreáticas e a secreção de insulina, potencializando, com isso, a formação dos reservatórios de glicogênio.¹⁴

Com relação ao comportamento do diafragma, é consenso entre profissionais da área da saúde que se trata de um músculo diferenciado que apresenta contínua ritmicidade e perfil metabólico próprio, uma vez que suas fibras precisam ser resistentes à fadiga. Diafragma de humanos apresentam 55% de fibras lentas tipo I, 21% de fibras tipo IIA e 24% de fibras tipo IIB.²⁰ No caso de animais de experimentação, mais especificamente de ratos Wistar, a porcentagem difere, atingindo 60% de fibras lentas tipo I, e 20% de fibras rápidas tipo IIA e IIB.²¹ Dessa forma, e por característica histológica, a resposta frente à mobilização de reservas energéticas foi menor se comparado ao músculo peitoral (14% tipo I; 8% IIA, 20% IId/X e 58% IIB).

O funcionamento adequado do músculo cardíaco depende de ajustes constantes frente à demanda de energia e sua relação com a ma-

nutrição de processos celulares especializados, como o transporte iônico e a homeostase do cálcio no intracelular dos cardiomiócitos. A demanda e a disponibilidade de energia estão em fluxo contínuo, e as vias geradoras de ATP respondem proporcionalmente às flutuações dinâmicas da demanda fisiológica, assim, o músculo cardíaco é adaptado a utilizar como fonte de energia diferentes substratos, preferencialmente glicose e ácidos graxos.²²

Possivelmente, devido à maior amplitude de vias e possibilidades de metabolizar

diferentes substratos, o glicogênio do músculo cardíaco (ventrículo), respondeu de forma diferenciada.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A suplementação com β -alanina promoveu modificação no perfil dos segmentos eletrocardiográficos de forma temporizada, e promove aumento nas reservas glicogênicas musculares e no diafragma.

REFERÊNCIAS

1. Santos EA, Pereira FB. Conhecimento sobre suplementos alimentares entre praticantes de exercício físico. **Revista Brasileira de Nutrição Esportiva**. 2017, 11 (62): 134-40.
- 2.
3. Lancha Jr AH. **Suplementação Nutricional no Esporte**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2009.
4. Sousa MMS, Navarro F. A suplementação de carboidratos e a fadiga em praticantes de atividades de endurance. **Revista Brasileira de Nutrição Esportiva**. 2010, 4 (24): 462-74.
5. Harris RC, Tallon MJ, Dunnett M., Boobis L., Coakley J., Kim HJ, et al. The absorption of orally supplied beta-alanine and its effect on muscle carnosine synthesis in human vastus lateralis. **Amino Acids**. 2006, 30: 279-89.
6. 5. Hobson RM, Saunders B., Ball G., Harris RC, Sale C. Effects of β -alanine supplementation on exercise performance: a meta-analysis. **Amino Acids**, 2012; 43 (1): 25-37.
7. 6. Naderi A., Sadeghi M., Sarshin A., Imanipour V., Nazeri SA, Farkhayi F., et al. Muscle carnosine concentration with the co-ingestion of carbohydrate with β -alanine in male rats. **Journal of Dietary Supplements**. 2017, 14 (4): 373-9.
8. 7. Lo S., Russell JC, Taylor AW. Determination of glycogen in small tissue samples. **J Appl Physiol**. 1970, 28 (2): 234-6.
9. 8. Martins JP, Rodrigues DF. Avaliação do consumo de suplementos nutricionais em praticantes de atividades físicas nas academias centrais da cidade de Sete Lagoas-MG. **Revista Brasileira de Ciências da Vida**. 2017, 5 (2): 1-20.
10. 9. Maioli HN. Avaliação do consumo de suplementos por mulheres praticantes de atividade física em uma academia na cidade de Taguatinga-DF. **Revista Brasileira de Nutrição Esportiva**. 2012, 6 (32): 118-25.
11. 10. Ito T., Kimura Y., Uozumi Y., Takai M., Muraoka S., Matsuda T., et al. Taurine depletion caused by knocking out the taurine transporter gene leads to cardiomyopathy with cardiac atrophy. **J Mol Cell Cardiol**. 2008, 44: 927-37.
12. 11. Usui T., Kubo Y., Akanuma S., Hosoya KI. β alanine and L-histidine transport across the inner blood retinal barrier: potential involvement in L-carnosine supply. **Exp Eye Res**. 2013, 113: 135-42.
13. 12. Butta NV, Adler-Graschinsky E. Presynaptic effects of l-alanine on peripheral sympathetic neurotransmission. **J Pharmacol Exp Ther**. 1987, 240 (1): 277-83.

14. 13. Courten B., Kurdiova T., Courten MPJ, Belan V., Everaert I., Vician M., et al. Muscle Carnosine is associated with cardiometabolic risk factors in humans. **PloS One**. **2015**, 6: 1-12.
15. 14. Courten B., Jakubova M., Courten MPJ, Kukurova IJ, Vallova S., Krumpolec P., et al. Effects of carnosine supplementation on glucose metabolism: Pilot clinical trial. **Obesity**. **2016**, 24(5): 1.027-34.
16. 15. Pavlov AR, Revina AA, Dupin AM, Boldyrev AA, Yaropolov AI. The mechanism of interaction of carnosine with superoxide radical in water solutions. **Biochem Biophys Acta**. **1993**, 1.157: 304-12.
17. 16. Dutka TM, Lamb GD. Effect of carnosine on excitation-contraction coupling in mechanically-skinned rat skeletal muscle. **J. Muscle Res. Cell. Motil**. **2004**, 25 (3): 203-13.
18. 17. Blanquert L., Shahid PB, Kwiatkowski S., Stautemas J., Stegen S., Barbaresi S., et al. Carnosine and anserine homeostasis in skeletal muscle and heart is controlled by B- alanine transamination. **J Physiol** **2016**, 594 (17): 4.849-63.
19. 18. Marques C., Soares EA, Coelho GMO. Efeito da suplementação de β -alanina em atletas, praticantes de atividade física e sedentários. **Revista Brasileira de Prescrição e Fisiologia do Exercício**. **2015**, 9 (56): 575-89.
20. 19. Freitas P, Painelli VS, Saunders B., Gualano B., Artioli GG. Metabolismo de carnosina, suplementação de β -alanina e desempenho físico: uma atualização – PARTE II. **Revista Brasileira de Nutrição Esportiva**. **2015**, 9 (52): 379-95.
21. 20. Polla B., D'Antona G., Bottinelli R., Reggiani C. Respiratory muscle fibers: Specialization and plasticity. **Thorax**. **2004**, 59 (9): 808-17.
22. 21. Padykula HA, Gauthier GF. The ultrastructure of the neuromuscular junctions of mammalian red, white and intermediate skeletal muscle fiber. **J Cell Biol**. **1970**, 46: 27-41.
23. 22. Hall JE. Guyton & Hall – Tratado de Fisiologia Médica, 13. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2017.

Dados dos autores

LUIZ CARLOS ALVES JÚNIOR

Mestrando em Ciências do Movimento Humano na Universidade Metodista de Piracicaba. Professor no Colégio Universitário de Avaré. Professor na Faculdades Integradas Regionais. Professor na Faculdade Sudoeste Paulista. Avaré/SP – Brasil. luizcarlosedufisica@gmail.com

PATRICIA CARLA PAULINO BELOTTO

Mestranda em Ciências do Movimento Humano na Universidade Metodista de Piracicaba. Professora na Faculdade Anhanguera Piracicaba. Piracicaba/SP – Brasil. pcpaulin@unimep.br

ADRIANA PERTILLE

Doutora em Anatomia pela Universidade Estadual de Campinas. Professora do Programa de Pós-Graduação em Fisioterapia e em Ciências do Movimento Humano da Universidade Metodista de Piracicaba e coordenadora do curso de Fisioterapia da Faculdade de Americana. Piracicaba/SP – Brasil. apertille@unimep.br

CARLOS ALBERTO SILVA

Doutor em Ciências Fisiológicas pela Universidade Estadual de Campinas. Professor do Programa de Pós-Graduação em Ciências do Movimento Humano e Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Metodista de Piracicaba. casilva@unimep.br

Submetido em: 11-10-2017

Aceito em: 19-10-2017