



**FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE COIMBRA**

**TRABALHO FINAL DO 6º ANO MÉDICO COM VISTA À ATRIBUIÇÃO DO  
GRAU DE MESTRE NO ÂMBITO DO CICLO DE ESTUDOS DE MESTRADO  
INTEGRADO EM MEDICINA**

**JOÃO LUIS LOURENÇO PÁSCOA PINHEIRO**

***A INFLUÊNCIA DOS AMINOÁCIDOS DE CADEIA  
RAMIFICADA (BCAAS) NA PERFORMANCE DO  
ATLETA***

**ARTIGO DE REVISÃO**

**ÁREA CIENTÍFICA DE MEDICINA**

**TRABALHO REALIZADO SOB A ORIENTAÇÃO DE:  
ORIENTADOR  
PROF. DR. MANUEL TEIXEIRA MARQUES VERISSIMO**

**OUTUBRO/2014**

**FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE COIMBRA**

**TRABALHO FINAL DO 6º ANO MÉDICO COM VISTA À  
ATRIBUIÇÃO DO GRAU DE MESTRE NO ÂMBITO DO CICLO  
DE ESTUDOS DE MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA**

**JOÃO LUIS LOURENÇO PÁSCOA PINHEIRO**

***A INFLUÊNCIA DOS AMINOÁCIDOS DE CADEIA  
RAMIFICADA (BCAAS) NA PERFORMANCE DO ATLETA***

**ARTIGO DE REVISÃO  
ÁREA CIENTÍFICA MEDICINA**

**TRABALHO REALIZADO SOB A ORIENTAÇÃO DE:**

**ORIENTADOR  
PROF. DR. MANUEL TEIXEIRA MARQUES VERISSIMO**

**OUTUBRO/2014**

## Índice geral

Índice de figuras .....	I
Lista de abreviaturas .....	II
Resumo .....	1
Abstract. ....	2
Palavras Chave .....	3
1. Introdução e objetivos .....	4
2. Metodologia .....	7
3. Abordagem geral.....	8
3.1. O que são BCAAs? .....	8
3.2 Metabolismo dos BCAAs .....	11
3.3. Catabolismo dos BCAAs e exercício. ....	14
3. 4. Síntese proteica e a influência dos BCAAs .....	20
3.5. Influência do exercício na síntese proteica .....	27
3.6. Lesão muscular induzida pelo exercício e bcaas .....	29
3.6.1. A DOMS e o exercício de endurance .....	33
3.6.2. A DOMS e o exercício de resistência .....	35
3.7. Fadiga central e BCAAs.....	38
4. Conclusão .....	45
Agradecimentos .....	47
Referências bibliográficas.....	48

## Índice de figuras

<b>Figura 1</b> – Esquematização dos passos do catabolismo dos BCAAs .....	14
<b>Figura 2</b> – Tempo para atingir a exaustão induzida pela prática de EF de alta intensidade após a toma de um placebo ou BCAAs .....	18
<b>Figura 3</b> – Protocolo experimental .....	19
<b>Figura 4</b> – Níveis de VO <sub>2</sub> no LT .....	20
<b>Figura 5</b> – Representação gráfica do balanço entre a síntese e a quebra de proteínas durante duas condições fisiológicas distintas, o jejum e o exercício .....	21
<b>Figura 6</b> – Regulação das vias de iniciação da síntese proteica pelo mTOR. ....	25
<b>Figura 7</b> – Papel do GSK-3 na tradução da síntese proteica .....	26
<b>Figura 8</b> – Taxa de fosforilação do p70s6k no grupo placebo e no grupo suplementado com BCAAs. ....	28
<b>Figura 9</b> – Variações da pressão arterial em ratos, após a infusão de TYR .....	40
<b>Figura 10</b> – Transporte dos BCAAs e de outros aminoácidos aromáticos através da BHE .....	42
<b>Figura 11</b> – Percentagem de erros dos dois grupos no teste de memória, antes e depois da corrida. ....	44

## **Lista de abreviaturas**

4E-BP1 – proteína inibidora da ligação do fator de iniciação eIF4E

5-HT – serotonina

AA – aminoácidos

AF – atividade física

ATP – adenosine trifosfato

AMPK – Rheb e a AMP kinase

BCAT – aminotransferase de cadeia ramificada

BCAAs – aminoácidos de cadeia ramificada

BCKA – ceto-ácidos de cadeia ramificada

BCKDH – desidrogenase de ceto-ácidos de cadeia ramificada

BHE – barreira hematoencefálica

C – carbono

-COOH – grupo carboxila

CK – creatina quinase

DA – dopamina

DOMS – Delay Onset Muscle Soreness

EE - exercício de endurance

EF – exercício físico

eIFs – fatores eucarióticos de iniciação

ER - exercício de resistência

EVA – escala visual de dor

FFA – free fatty acids

GSK-3 – kinase sintetase-3 do glicogénio

H – hidrogénio

IB-CoA – isobutiril-CoA proveniente do KIV

IL – interleucina

IFN-G – interferão gama

IGF-1 – insulin-like

IV- CoA – isovaleril-CoA proveniente do KIC

KIC – alfa-ketoisocaproato

KIV – alfa-ketoisovalerato

KMV – alfa-Keto-Beta-metilvalerato

LDH – lactato desidrogenase

LT<sup>a</sup> – lactate threshold

MB-CoA – o 3-metilbutiril-CoA proveniente do KMV

mTOR – mammalian target of rapamycin

MVC – maximum voluntary contraction

N – azoto

NA – noradrenalina

-NH- – grupo imino

-NH<sub>2</sub> – grupo amino

NK - Natural Killer Cell

NT – neurotransmissores PHE – fenilalanina

PI3-K – fosfatidil-inositol-3-quinase

PKB – proteína kinase B

p70S6K – proteína kinase ribossomal S6 70KDA

O – oxigénio

RER – respiratory exchange rácio

rheb - Ras homolog enriched in brain

rpS6 – protein ribossomal S6

S – enxofre

SA – suplementação alimentar

SNC – sistema nervoso central

TH – T helper naïve

TRP – triptofano

TYR – tirosina

TSC1 e TSC2 – tuberous sclerosis complex

Vo2 max. – consumo máximo de oxigénio





## **Resumo**

Os aminoácidos (AA) são substâncias essenciais para o organismo humano. Estes podem ser classificados em dois grupos, os naturais, de produção endógena, e os essenciais, fornecidos pela dieta. Neste segundo grupo, incluem-se os aminoácidos de cadeia ramificada, (BCAAs) enquanto constituintes importantes das proteínas musculares, nomeadamente a valina, a leucina e a isoleucina.

As ciências médicas estudam este grupo de AA, há mais de 30 anos, tentando perceber os eventuais benefícios para a saúde e desempenho desportivo.

Os BCAAs desempenham um papel fulcral no processo de iniciação da tradução da síntese proteica, nomeadamente a leucina, estimulando as vias responsáveis pelo aumento do anabolismo proteico, dependentes, ou não, do mammalian target of rapamycin (mTOR). São também referidos como substrato para reações relacionadas com a obtenção de energia, tais como a gliconeogénese e o ciclo de Krebs.

Os BCAAs são, assim, utilizados para aumentar o desempenho físico e a capacidade de recuperação após o esforço. São também referidos como importantes no alívio da síndrome que envolve a dor e contratura muscular decorrente do esforço denominada Delay Onset Muscle Soreness (DOMS), e na redução da perceção de fadiga resultante da alteração de síntese de neurotransmissores do sistema nervoso central.

Esta monografia aborda um tema controverso, com estudos de baixa evidência, metodologias heterogéneas, resultados contraditórios e limitações na transposição da investigação animal para o Homem.

Pretende ser um contributo para um melhor conhecimento da atividade fisiológica dos BCAAs no ser humano.

## **Abstract**

Amino acids ( AA ) are essential substances for the human body . These can be classified into two groups, the natural ones of endogenous production and the essential ones supplied by diet . The branched chain amino acids ( BCAA ) are included in this second group as a major constituent of muscle proteins , namely valine, leucine and isoleucine .

Medical sciences have studied this group of amino acids ( AA ) for over 30 years , trying to understand its potential benefits for health and sports performance .

BCAAs play a central role in the process of translation initiation of protein synthesis , particularly leucine , by stimulating the pathways which are responsible for the increasing of protein anabolism , be it dependent or not on mTOR . They are also referred to as a substrate for reactions related to obtaining energy , such as gluconeogenesis and the Krebs cycle .

BCAAs are thus used to increase physical performance and the ability to recover after exercise . They are also mentioned as important in the syndrome`s relief that involves pain and muscle spasm resulting from effort Delay Onset Muscle Soreness ( DOMS ) , and in reducing the perception of fatigue resulting from changes in the synthesis of neurotransmitters in the central nervous system.

This monograph addresses a controversial issue, with low evidence studies, heterogeneous methodologies, conflicting results and limitations in the implementation of animal research on humans.

It is intended to contribute to a better understanding of the physiological activity of BCAAs on humans.

## **Palavras-chave**

“Aminoácidos de cadeia ramificada” (Branched Chain Amino Acids ) (BCAAs), “atleta” (athlete), “exercício físico” ( physical exercise), “manipulações nutricionais” (nutritional manipulations), “suplementos” (supplements), “fadiga central” (central fatigue), lesão muscular (muscle damage ) e síntese proteica (protein synthesis).

## 1. Introdução e objetivos

A prática de exercício físico (EF) é uma atividade que nos dias de hoje, não faz parte do quotidiano de uma grande percentagem da população. A mecanização, os avanços tecnológicos, a informatização e a presença cada vez mais frequente dos chamados “labor saving devices” (mecanismos que poupam esforço físico) como escadas rolantes ou elevadores têm conduzido à diminuição progressiva da atividade física no trabalho e no domicílio (1).

Para a população que pratica exercício físico (EF), uma dieta equilibrada é suficiente para manter um bom desempenho físico e uma vida saudável.

No entanto, sempre que o aumento do rendimento físico é uma condição desejada, ambição da maior parte dos atletas, a suplementação alimentar (SA) apresenta-se como uma estratégia adicional ao programa de treino e condicionamento desportivo (2).

A atividade física (AF) é entendida como todo movimento produzido pelos músculos esqueléticos que implica o gasto de energia acima dos níveis de repouso, incluindo o trabalho, a recreação, as atividades desportivas e o exercício (3).

Trata-se de um conceito abrangente podendo incluir múltiplas formas de motricidade (4), corporizando no seu todo a essência do conceito de mobilidade (força muscular, amplitude muscular, coordenação, proprioção e postura) (5).

A prática regular de AF contempla inúmeros benefícios para manter um bom estado de saúde, potenciar a função e a interação social, tornando-se assim um elemento decisivo para a qualidade de vida do cidadão (5-7).

Um estudo populacional com 50 000 antigos estudantes universitários analisou a relação entre a prática regular de AF e o estado de saúde (8), tendo concluído que os indivíduos menos ativos eram mais doentes e que a doença cardiovascular era mais frequente. A prática de AF assume-se como um dos principais indicadores que pode predizer um estilo de vida saudável. Assim, caminhar para o emprego, passear o cão, subir escadas, lavar o carro, brincar com os filhos, cuidar do jardim são atividades de vida diária, que podem promover uma redução do sedentarismo.

O conceito EF refere-se a uma sequência sistematizada de movimento em diferentes segmentos corporais, executados de forma planeada estruturada e repetitiva e com o objetivo de promover ou manter um ou mais componentes da condição e desempenho físicos (9).

Nadar, correr, fazer atividades em ginásio, dançar em academias são exemplos da prática de EF, implicando um planeamento, equipamento, definição de intensidade, duração e objetivos do trabalho físico. Os riscos são também acrescidos podendo já indicar a necessidade de uma prescrição fundamentada.

O EF pode ser dividido em trabalho aeróbio e anaeróbio segundo as exigências fisiológicas da atividade. O primeiro caracteriza-se por ser um exercício contínuo, de longa duração e baixa ou moderada intensidade. Este tipo de exercício estimula o sistema cardiorrespiratório e utiliza oxigénio para produzir energia para os músculos. O exercício anaeróbio é um exercício de alta intensidade e curta duração, que não utiliza oxigénio e produz ácido láctico (10). As atividades quotidianas, nomeadamente os autocuidados privilegiam a via aeróbia. O consumo máximo de oxigénio ( $Vo_2 \text{ max.}$ ) pode, assim, ser entendido como um indicador de capacidade funcional e de intervenção nas atividades de vida diária.

A atividade desportiva (AD) identifica-se como uma forma específica e organizada do exercício, sujeita a regras e processos organizacionais, promovendo a interação das dimensões fisiológica e psicológica nos conceitos sorte, estratégia, proeza, e superação (11). Os programas de treino têm objetivos específicos, segundo calendários pré-definidos, criando-se, assim, motivações para a introdução de SA.

A valorização do desempenho na AD surge cada vez mais ligado à SA e elementos ergogénicos, descritos como “substâncias ou artifícios utilizados que visam melhorar a performance”, (12) com o objetivo de retirar benefícios para a saúde e melhorar o rendimento e a condição física, sem prejudicar a saúde do praticante (13).

A sociedade ocidental encontrou no desidrato do corpo perfeito, um corpo com baixa percentagem de gordura associado a maior volume muscular (13) uma referência civilizacional, justificando assim a procura e consumo destas substâncias particularmente em jovens e em atletas (11).

A SA, incluindo proteínas e AA, surge como uma estratégia polémica a considerar para melhorar o rendimento físico em atletas de diversas modalidades (13).

O objetivo deste trabalho é discutir o interesse da suplementação proteica, em particular a suplementação com aminoácidos de cadeia ramificada (BCAAs) na promoção da condição física e na atividade muscular do praticante. Pretende ainda identificar potenciais benefícios dos BCAAs na promoção do estado de saúde do atleta (nomeadamente na prevenção lesional).

## **2. Metodologia**

Foi feita uma revisão de trabalhos publicados entre 1964 e 2014 sobre a influência da suplementação com BCAAs no aumento da condição muscular e do estado de saúde do desportista na base de dados PUBMED.

Foram também realizadas pesquisas nos motores de busca WEB com a finalidade de encontrar estudos, artigos de revisão e de revistas acerca desta problemática.

As palavras-chave utilizadas foram as seguintes em combinações variadas: “aminoácidos de cadeia ramificada (Branched Chain Amino Acids ) (BCAAs), “atleta” (athlete), “exercício físico” ( physical exercise), “manipulações nutricionais” (nutritional manipulations), “suplementos” (supplements), “fadiga central” (central fatigue), lesão muscular (muscle damage ) e síntese proteica (protein synthesis).

### **3. Abordagem geral**

#### **3.1. O que são BCAAs?**

Os AA são unidades básicas que entram na composição das proteínas do organismo humano. São compostos quaternários de carbono (C), hidrogénio (H), oxigénio (O) e azoto (N) - às vezes contêm enxofre (S), como a cisteína que apresentam um grupo amino (-NH<sub>2</sub>) e um grupo carboxila (-COOH); a única exceção é a prolina, que contém um grupo imino (-NH-) no lugar do grupo amino. Estas substâncias são a base da síntese proteica (14). Existem dois tipos de AA: os naturais, os quais podem ser produzidos pelo nosso organismo (alanina, asparagina, ácido aspártico, ácido glutâmico serina e taurina) e mais nove aminoácidos considerados essenciais, assim chamados por não poderem ser sintetizados endogenamente e serem por isso provenientes da dieta (15). Nos AA essenciais incluem-se os aminoácidos de cadeia ramificada, BCAAs (valina, leucina e isoleucina). Os BCAAs correspondem a 35% dos AA utilizados na síntese de proteínas musculares e a 40% dos aminoácidos indispensáveis para os mamíferos (16). Estes podem ser obtidos de várias fontes tais como a alimentação, mas também na sua forma livre, ou misturados em soluções de proteínas hidrolisadas. Por exemplo, 100 g de peito de frango contém 470mg de valina, 375g de isoleucina e 656 mg de leucina, o equivalente a sete comprimidos de BCAAs. Já 60g de amendoim correspondem a 11 comprimidos de BCAAs (17).

A primeira investigação sobre o efeito de BCAAs no desempenho físico foi feita por Blomstrand et al. em Estocolmo. Utilizou 193 indivíduos do sexo masculino durante um maratona tendo-os dividido aleatoriamente em dois grupos; um grupo experimental que tomou BCAAs e um grupo controlo que consumiu apenas água com sabor. Os



atletas podiam consumir, também, livremente bebidas com carboidratos. Não se verificou grande diferença nos resultados dos dois grupos. No entanto, quando o grupo experimental foi dividido em corredores mais rápidos e mais lentos, e se deu aos mais lentos BCAAs, verificou-se que estes tiveram uma redução significativa no tempo da maratona. Este estudo, apesar de ter sido o primeiro, foi considerado pouco relevante, uma vez que, por exemplo, não foram comparados os resultados dos atletas que ingeriram BCAAs durante a corrida, com os resultados que tinham obtido em anteriores desempenhos, sem tomarem BCAAs (18).

Embora as fontes de proteínas presentes na alimentação, como carnes, contenham elevadas concentrações de BCAAs, algumas pesquisas mostraram que a suplementação adicional nos desportistas pode ser benéfica. É importante lembrar que apesar da elevada concentração de BCAAs que alguns alimentos apresentam, outros constituintes como os lípidos e os hidratos de carbono podem estar presentes. Por isso, os BCAAs na sua forma livre aparecem, muitas vezes, referenciados pela medicina desportiva e pela nutrição como portadores de inúmeros benefícios no rendimento desportiva (19).

No entanto, os benefícios da suplementação com BCAAs é um assunto polémico e por isso, outros autores apresentam estudos discordantes quanto aos efeitos da suplementação com este tipo de compostos no desempenho desportivo defendendo que os BCAAs são pouco reprodutivos, não influenciando o rendimento físico, daí não ser justificável o seu consumo com finalidades ergogénicas (20).

A performance de um praticante de EF está normalmente associada às necessidades energéticas e à composição corporal (20). No entanto, devido ao efeito que o EF apresenta no tecido muscular, uma adequada recuperação após a realização de um determinado tipo de exercício, será também essencial para uma melhor performance nos dias seguintes. Para

além dos fatores referidos, outros estudos sugerem que a fadiga central é um fator a considerar no que toca à performance do praticante de EF (18).

Os BCAAs podem ser obtidos de várias fontes tais como a alimentação, mas também na sua forma livre, ou misturados em soluções de proteínas hidrolisadas. Sabe-se que o exercício físico promove alterações da massa muscular assim como das proteínas que a constituem, como forma de obtenção de energia. 40% das proteínas do organismo humano fazem parte da constituição do tecido muscular. Já os BCAAs, principais constituintes das proteínas representam cerca de 12% da energia utilizada por um atleta durante a prática de EF (17). Sabe-se ainda, que a prática de EF altamente desgastante, poderá criar no indivíduo um estado de imunodepressão que afeta células responsáveis pela proteção do organismo contra infeções, tais como os macrófagos, os linfócitos e os neutrófilos (21, 22).

O músculo-esquelético possui propriedades que lhe permitem responder a múltiplos estímulos exógenos, como por exemplo o exercício e a nutrição, que promovem respostas adaptativas no músculo em termos de estrutura e função. A esta característica dá-se o nome de plasticidade (23). Os BCAAs são exemplos de nutrientes, capazes de alterar esta resposta adaptativa (24, 25).

Este grupo de AA são vistos como elementos chaves na recuperação após o exercício físico, já que têm a capacidade de intervir em processos chave responsáveis pela iniciação da tradução de uma proteína, promovendo uma melhor recuperação do atleta. O balanço entre a síntese proteica e o seu catabolismo é, normalmente, negativo após a prática de EF (26). Para além disso, enzimas como a creatina-kinase (CK), a mioglobina, e lactato desidrogenase (LDH), vistas como marcadores de destruição de tecido muscular, ficam, também, aumentadas após o EF (27).

A recuperação muscular após a prática de EF, é vista como um elemento chave na performance do atleta. Sabe-se que quanto mais intenso é o exercício, mais energia será necessária mobilizar. Assim, durante o exercício, a taxa de proteólise é mais elevada que a

síntese proteica. A primeira mantém-se por várias horas, já a segunda vai aumentando, até atingir o seu nível normal às 48 horas. Para que a recuperação muscular seja eficiente, é necessário, que a síntese seja maior que a destruição. (28-30).

Outro fator que afeta a recuperação muscular e a performance do atleta nos treinos ou competições seguintes é a “Delay Onset Muscle Soreness” DOMS. Pode-se definir como sendo uma síndrome, que ocorre após 24-48h da prática de exercício intenso. Os sintomas associados são a dor e a contratura com a consequente redução da mobilidade. A sintomatologia estará relacionada com destruição de tecido muscular sendo a sua expressão decorrente da intensidade, duração e tipo de EF (31-33).

Os BCAAs apresentam, ainda, funções bioquímicas importantes ao nível do SNC. Estes participam na síntese de neurotransmissores (NT), tais como serotonina (5-HT), uma amina derivada do triptofano e duas catecolaminas, a dopamina e norepinefrina. Os NT referidos derivam de aminoácidos aromáticos como o triptofano, a fenilalanina e a tirosina. A capacidade dos BCAAs atuarem a nível do SNC deve-se à existência de transportadores na barreira hemato-encefálica (BHE). Esta característica poderá ser importante no controlo da “fadiga central”, que ocorre durante e após a prática de EF de longa duração e grande intensidade, conduzindo a elevados prejuízos na sequência do treino e obtenção na dos resultados desportivos (34-36).

### **3.2. Metabolismo dos BCAAs**

Os BCAAs correspondem então a 3 dos 9 AA essenciais. Estes são catabolizados pela mesma via de metabolismo. Os metabolitos daqui resultantes, exercem um papel fulcral em reações do ciclo de Krebs e na gliconeogénese, com o objetivo de aumentar a produção de adenosina trifosfato (ATP) durante o EF (37).

Ao contrário dos outros aminoácidos que apresentam no fígado a maior taxa de catabolismo, os BCAAs são maioritariamente oxidados no músculo-esquelético. No entanto, podemos considerar que o fígado intervém indiretamente na oxidação dos BCAAs, já que um dos tipos de enzima responsável pela degradação dos cetoácidos de cadeia ramificada (BCKA), derivados de um primeiro passo do catabolismo dos BCAAs, apresenta uma grande atividade ao nível do tecido hepático, e baixa atividade no tecido muscular. A enzima descrita é denominada de desidrogenase de cetoácidos de cadeia ramificada (BCKDH). Por outro lado, numa primeira reação, encontramos a aminotransferase de cadeia ramificada (BCAT), com grande atividade ao nível do tecido muscular (38, 39).

O catabolismo dos BCAAs acontece a nível da mitocôndria das células do tecido muscular. Os dois primeiros passos são comuns. A primeira reação é uma transaminação reversível catalisada pela BCAT, em que os BCAAs são degradados em BCKAs. Os BCKAs, são o alfa ketoisocaproato (KIC), derivado da leucina, o alfa-Keto-Beta-metilvalerato (KMV) derivado da isoleucina e o alfa-ketoisovalerato (KIV) derivado da valina. A segunda reação passa por uma irreversível descarboxilação oxidativa dos BCKAs para formar compostos de Acil-CoA (R-CoA), tais como o isovaleril-CoA (IV-CoA), proveniente do KIC; o 3-metilbutiril-CoA (MB-CoA), proveniente do KMV e o isobutiril-CoA (IB-CoA), proveniente do KIV. Esta reação é cataboliza pelo complexo BCKDH (40).

Esta última reação só é possível se o complexo BCKDH estiver ativo, sendo este processo regulado por um ciclo de fosforilação/desfosforilação a nível da subunidade E1alfa do complexo referido. A fosforilação, que é controlada pela BCKDH kinase, é responsável pela desativação do complexo. Por outro lado a desfosforilação é controlada pela BCKDH fosfatase, sendo esta responsável pela ativação do complexo (41-43).

Sabe-se também que um aumento no KIC promove uma diminuição da atividade da BCKDH kinase aumentando, assim, a atividade do complexo BCKDH, promovendo o catabolismo dos BCAAs. O mesmo acontece com substâncias análogas do KIC, tal como o ácido clorifibico. Já o KMV e o KIV apresentam um efeito inibidor da BCKDH kinase semelhante ao KIC, no entanto menos potente (44).

No terceiro e último passo do catabolismo dos BCAAs, os produtos obtidos até ao momento, são catabolizados por vias distintas: o IV-Coa forma acetil CoA e acetoacetato. O IB-CoAA é convertido em succinil-CoA, que é intermediário no ciclo de Krebs. O MB-CoAA é convertido tanto em acetoacetato, como em succinil-CoA. Pode-se, então, caracterizar a leucina como uma substância cetogénica, a valina como uma substância glicogénica e a isoleucina como uma substância que apresenta tanto características cetogénicas como glicogénicas (45, 46).

A BCAT, responsável pela transaminação reversível dos BCAAs, primeiro passo do catabolismo destes aminoácidos, promove uma reação paralela em que o alfa-cetoglutarato é convertido em glutamato. Este é um substrato essencial para a formação de outros aminoácidos, tais como a glutamina e alanina (47).

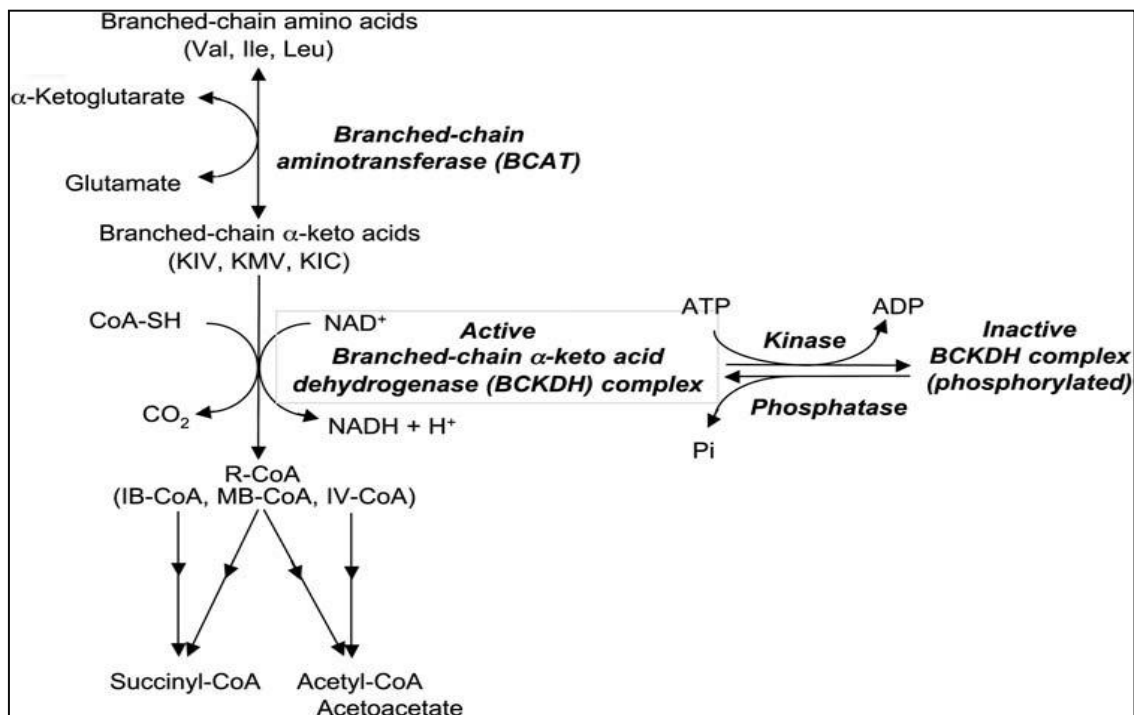


Fig 1. Esquematização dos passos do catabolismo dos BCAAs

Shimomura, Y., Murakami, T., Nakai, N., et al. Exercise promotes BCAA catabolism: effects of BCAA supplementation on skeletal muscle during exercise. *J Nutr.* 2004; 134(6 Suppl):1583S-1587S.

### 3.3. Catabolismo dos BCAAs e exercício físico.

Para uma correcta prática de EF é necessário que o nosso organismo tenha a capacidade de metabolizar determinadas substâncias com o objetivo de obter energia. No final dos anos 70, os BCAAs, foram considerados o terceiro substrato utilizado pelo organismo para produção de energia, sendo os primeiros os lípidos e os hidratos de carbono (48).

O EF, promove a oxidação de BCAAs ao nível do tecido muscular, como forma de obter substratos para a formação de mediadores responsáveis por reações como a anaplerosis no ciclo de Krebs ou a gliconeogénese. O exercício de longa duração, com um nível de intensidade de moderado a alto, conhecido como exercício de endurance, promove o catabolismo dos BCAAs, já que interfere na ação da BCKDH kinase, e consequente na ação do complexo BCKDH, responsável pelo segundo passo do

catabolismo dos BCAAs. Estudos, realizados em humanos e ratos, comprovam que logo após a realização de uma prova de exercício de endurance, o complexo BCKDH está ativo em grandes quantidades. Foi ainda demonstrado, em ratos, que após 85 min de corrida, BCKDH kinase hepática está diminuída. Daqui conclui-se que os BCAAs poderão ser utilizados como fonte de energia no EF (49- 51). No entanto McKenzie et al comprovou que a atividade do complexo BCKDH e a taxa de oxidação dos BCAAs, diminuía com o treino. Para isso, ele realizou duas provas de corrida durante 90 minutos a 65% do VO<sub>2</sub> max, onde participaram homens e mulheres não treinados. As provas apresentaram um espaçamento de 38 dias. Durante este período, os indivíduos realizaram um protocolo de treino específico para a prova referida. Foi possível observar que na segunda prova, a atividade da BCKDH e a taxa de oxidação da leucina é menor. Deste resultado conclui-se que o treino é suficiente para melhorar a performance de um atleta em uma determinada modalidade. Os 38 dias de treino realizados pelos indivíduos, diminuiram as necessidades energéticas do organismo, logo a taxa de oxidação de BCAAs está diminuída, assim como a atividade do complexo BCKDH (52).

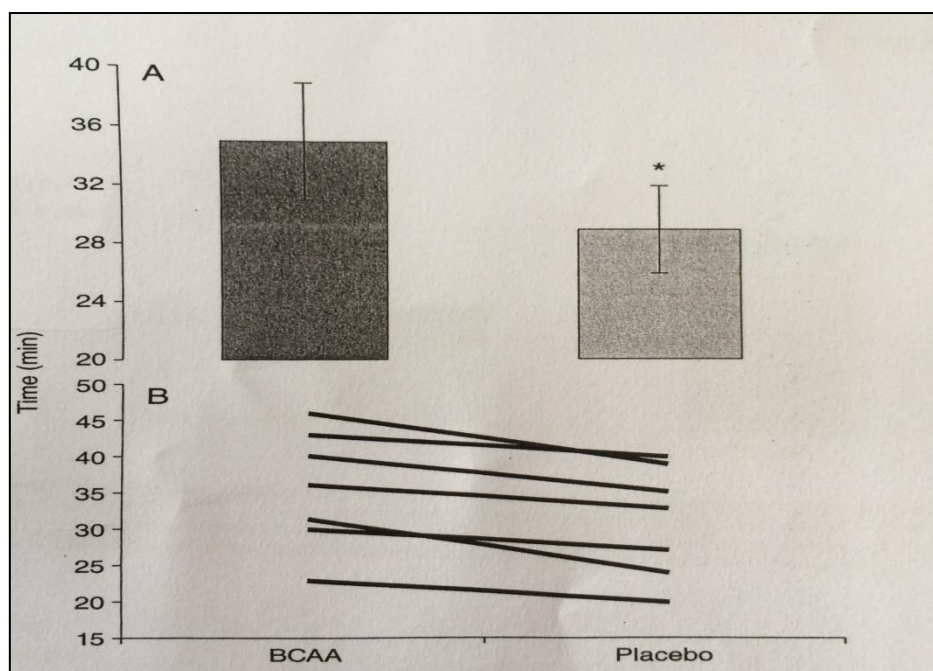
Foi ainda encontrada uma correlação entre a estimulação da oxidação de ácidos gordos livres (FFAs) com a atividade do complexo BCKDH. Sabe-se que o exercício de endurance promove um aumento da oxidação de ácidos gordos, que por sua vez leva a um aumento da concentração de ácidos gordos livres (FFAs) na circulação. Foi administrado em ratos ácido clorifibico, um fármaco hiperlipidémico que aumenta os FFAs na circulação. Observou-se uma diminuição da expressão da BCKDH kinase, e um aumento da ação do complexo BCKDH. No fim do estudo foi proposto que o recetor proliferador ativado-alfa (PPARalfa) seria o responsável pelo fenómeno observado, já que existiria um aumento dos seus ligandos (51- 55).

Ainda relacionado com o melhoramento da performance durante o EF, tentou-se provar que a suplementação com BCAAs, antes de uma determinada prova, teria a capacidade de aumentar a oxidação de lípidos, em atletas com reservas de glicogénio baixas, e assim atingir o estado de fadiga mais tardiamente (56). Sabe-se que o ciclo de Krebs é uma reação que tem por objetivo produzir energia através da oxidação de hidratos de carbono, BCAAs e lípidos. Se a disponibilidade dos seus substratos, o oxaloacetato e a acetil-CoA, for baixa, o ciclo encontra-se limitado (57, 58). Ora, o EF está relacionado com baixas reservas de glicogénio muscular e hepático, substrato essencial para a manutenção dos níveis ideais de oxaloacetato, no organismo. Como consequência a taxa de oxidação lipídica estará também comprometida (59).

A uma redução do glicogénio, está associada um aumento da transaminação dos BCAAs. Sabe-se que estes AA participam nas reações de anapleroses, do ciclo de Krebs, regenerando os seus reguladores, permitindo, assim, teoricamente, a oxidação lipídica, quando as reservas de glicogénio estão baixas (59-61). Para provar esta teoria, sete atletas do sexo masculino, foram submetidos a uma prova de corrida até que atingissem o seu limiar anaeróbio e VO<sub>2</sub> max. Passado uma semana, um grupo foi suplementado com BCAAs (300mg/KG/dia) ou placebo (malto dextrina na mesma dose), durante três dias. No segundo dia de suplementação, os atletas foram submetidos a um protocolo de treino que permitiria depleção dos níveis de glicogénio. Este protocolo, consistia em numa prova de 45 minutos a 70% do VO<sub>2</sub> max., seguida de dois sprints, com uma duração de 10 minutos cada um a 90% do VO<sub>2</sub> max. No terceiro dia, passadas 10 horas de jejum, os atletas realizaram uma prova a 80% do seu limiar anaeróbio até à exaustão. Neste estudo foram avaliadas, durante a realização da prova, as concentrações de FFAs no sangue, o respiratory exchange ratio (RER), a resistência à fadiga, e os níveis de glicose de ambos os grupos. O protocolo descrito foi repetido



passados sete dias. Os resultados apresentados demonstram que os atletas suplementados com BCAAs, atingem a exaustão mais tardiamente, que o RER, é significativamente mais baixo, que os níveis de glicose plasmáticos diminuem mais lentamente e que as concentrações sanguíneas de FFAs não sofriam qualquer alteração. Destes resultados admitiu-se que, apesar dos níveis de FFAs no sangue permanecerem estáveis, o que sugere baixa taxa de oxidação lipídica, o facto de o RER ser mais baixo no grupo sujeito a suplementação, indica que a oxidação lipídica provavelmente seria mais elevada. Para além disso, o facto dos níveis de glicose no grupo que consome BCAAs, ser mais elevado, sugere que este suplemento poderá apresentar um efeito poupador de glicogénio (56).



**Fig. 2.** Tempo para atingir a exaustão induzida pela prática de EF de alta intensidade após a toma de um placebo ou BCAAs. A) média; B) Registo individual

Gulano, A., Bozza, T., De Campos, P. et al. Branched chain amino acids supplementation enhances exercise capacity and lipid oxidation during endurance exercise after muscle glycogen depletion. *Sports Med Phys Fitness*. 2011; 51(1):82-8.

No entanto Tang F. C. (62) não verificou qualquer alteração na concentração plasmática de glicose em nadadores suplementados com BCAAs durante 15 dias depois de 25 minutos de crawl.

Partindo de pressuposto que durante a prática de EF uma grande quantidade de BCAAs são oxidados, para que possam ser utilizados como fontes de obtenção de energia, procurou-se provar que a toma de BCAAs pode interferir com alguns parâmetros relacionados com a performance do atleta tais com o RER e o VO<sub>2</sub> max quando atingido o lactate threshold (LT<sup>a</sup>). O lactato forma-se principalmente durante o exercício mais prolongado, quando as reservas de energia são esgotadas, e o organismo necessita de recorrer à via anaeróbia para obtenção de glicose (63). A oxidação dos BCAAs promove a formação de metabolitos (acetil-COA e Succinyl-COA), utilizados

diretamente no ciclo de Krebs, não sendo assim necessário recorrer à via anaeróbia para obter glicose. Como consequência é possível observar uma diminuição dos níveis de lactato na circulação (16, 63, 64).

Decidiu-se, assim, provar que o LT aumenta com a toma de BCAAs. Para isso foram escolhidos 8 homens, atletas de alta competição, com características antropométricas semelhantes. Foram feitos dois testes com um intervalo entre eles de uma semana. Cada teste demorava cerca de sete dias. Nos primeiros seis dias, os participantes tomavam cerca de 1500 ML/d (500 ML, 3 vezes por dia) de duas bebidas, uma com 2g de BCAAs e outra com 2g de dextrina. Os atletas continuavam a treinar diariamente, sendo a intensidade semelhante para todos os participantes. No 7º dia realizava-se, então, a prova de esforço, a qual foi realizada num ergómetro de bicicleta. A intensidade de treino era aumentada a cada 2 minutos. A prova terminava quando o atleta não conseguia manter uma pedalada no valor de 50rpm. Neste dia, a alimentação pré treino era controlada, e os participantes consumiam apenas 1000ml de bebida (500ml após o pequeno-almoço e durante o repouso).

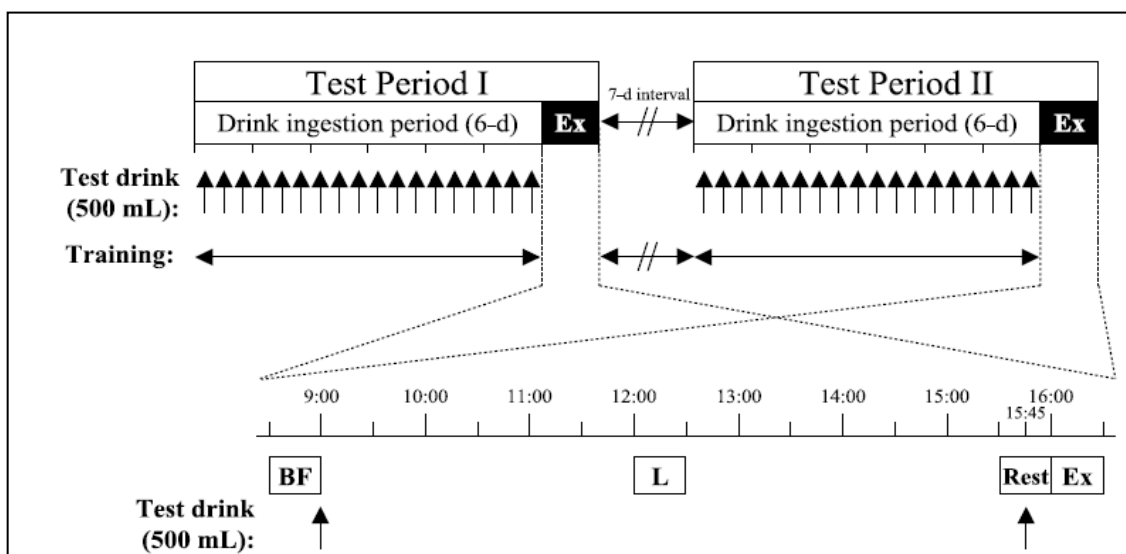
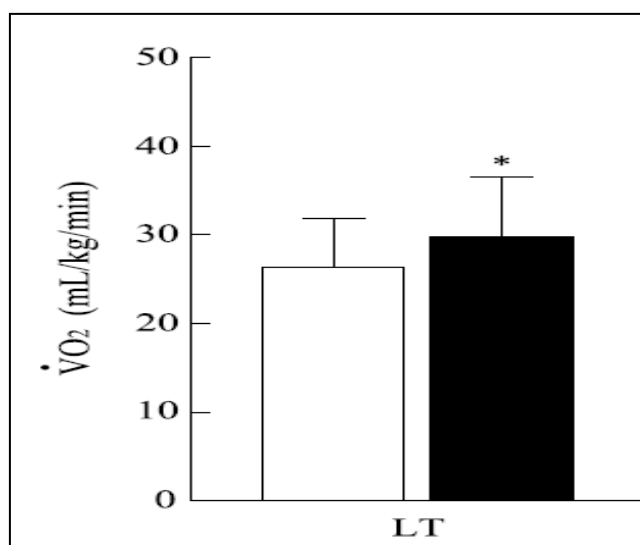


Fig 3. Protocolo experimental.

Matsumoto, K., Koba, T., Hamada, K. Branched chain amino acid supplementation increases the lactate threshold during an incremental exercise test in trained individuals. *J Nutr Sci Vitaminol* 2009; 55(1): 52-8.

Foram recolhidas amostras de sangue antes do exame começar e a cada minuto, durante a prova. No final do exame conclui-se que o grupo que consumia a bebida suplementada com BCAAs, apresentava no LT, uma carga de trabalho e um VO<sub>2</sub> mais elevados. Já o RER encontrava-se diminuído. Daqui, conclui-se que o atleta poderá aumentar os níveis de energia pela via do catabolismo dos BCAAs. Os níveis de lactato mantiveram-se iguais em ambos os grupos (65).



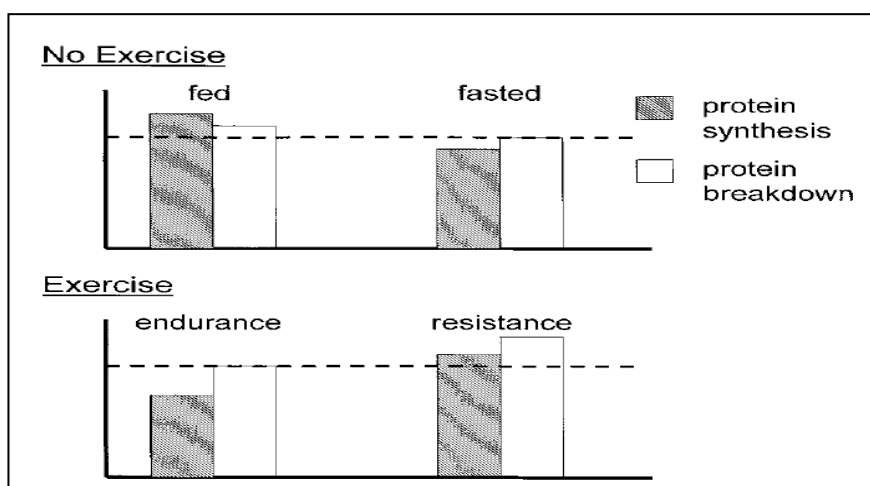
**Fig. 4** Níveis de VO<sub>2</sub> no LT. As barras preenchidas representam o grupo suplementado com BCAAs, as barras sem preenchimento o grupo placebo.

Matsumoto, K., Koba, T., Hamada, K. Branched chain amino acid supplementation increases the lactate threshold during an incremental exercise test in trained individuals. *J Nutr Sci Vitaminol* 2009; 55(1): 52-8.

### 1.1. Síntese Proteica e a influência dos BCAAs

As proteínas presentes no organismo humano sofrem um processo de constante remodelação conhecido como turnover proteico. O tecido muscular, constituído maioritariamente pela proteína miofibrilar (80%) e em menor quantidade por proteína mitocondrial, apresenta um contínuo de reações que consistem na quebra e na síntese de

proteínas (66). Assim, podemos observar dois tipos de acontecimentos: quando a síntese é maior que a quebra, verifica-se hipertrofia muscular, quando acontece o inverso, observa-se perda de massa muscular. Por exemplo, após uma refeição, como consequência da absorção de nutrientes, observa-se uma elevada taxa de síntese proteica. Pelo contrário, após uma noite em jejum a síntese proteica diminui cerca de 15-30%, dependendo esta taxa do número de horas sem ingestão de alimentos. Também os diferentes tipos de exercício afetam o turnover proteico. Sabe-se que o EF em geral promove um balanço negativo entre os níveis da síntese e degradação de proteínas, promovendo, por isso, o catabolismo proteico (67, 68). Sabe-se que, após a realização de exercício de endurance (EE), a taxa de proteólise será maior que a taxa de síntese proteica. Já no exercício de resistência (ER), se este for realizado com moderada intensidade e num curto intervalo de tempo, pode-se observar que a síntese será maior que a quebra. No entanto, se a intensidade e o tempo de treino forem aumentados, apesar da síntese proteica se manter em níveis superiores aos normais, o balanço entre estes dois mecanismos será negativo, já que a proteólise apresenta uma taxa bastante mais elevada (69, 70).



**Fig. 5** Representação gráfica do balanço entre a síntese e a quebra de proteínas durante duas condições fisiológicas distintas, o jejum e o exercício. A variável EF foi analisada tendo em conta o exercício de endurance e de resistência. Norton, L., Layman, D. Leucine regulates translation initiation of protein synthesis in skeletal muscle after exercise. 2006: 136(2):533S-537S.

Para que a síntese proteica ocorra, é essencial um mecanismo molecular de iniciação, responsável pelo início da tradução de proteínas. Os elementos nutricionais mais importantes, para que a iniciação da tradução ocorra, são o estado de energia celular e a concentração intracelular de BCAAs, principalmente a leucina (67, 68).

A fase de iniciação da síntese proteica depende da fosforilação do mammalian target of rapamycin (mTOR). Esta reação estimula a síntese proteica através de três proteínas: a proteína kinase ribossomal S6 70KDA (p70S6K); a proteína inibidora da ligação do fator de iniciação eIF4E (4E-BP1) e o fator de iniciação eucariótico eIF4G (71-73). O mTOR estimula a síntese proteica através de duas vias:

### **Primeira via**

Para que a síntese proteica possa ser realizada com sucesso, é necessário que estejam presentes um conjunto variado de precursores moleculares, também chamados de fatores de iniciação, tais como as grandes e as pequenas subunidades ribossomais (60S e 40S) respetivamente, mRNA específico para uma determinada proteína, um tRNA para um determinado A, e proteínas catalíticas denominadas fatores eucarióticos de iniciação (eIFs). Dentro destes últimos grupos temos o eIF2, o complexo eIF4F e a proteína ribossomal S6 (rpS6) (67,74).

Para que a tradução se inicie, isto é, para que o mRNA tenha a capacidade de se ligar ao ribossoma, será necessário ativar a subunidade 40S do ribossoma. O responsável por este processo será o eIF2. Este fator de iniciação, que transporta consigo uma molécula de GTP e o aminoácido de iniciação metionina, irá ligar-se à subunidade 40S ativando-a. Desta reação surge um complexo ternário denominado complexo de pré-iniciação 43S (67, 75).

O complexo de pré-iniciação encontra-se agora preparado para se ligar ao mRNA. Este último processo é regulado pelo complexo eIF4F, constituído por três subunidades: o eIF4E, que se liga à região 5'cap do mRNA para que este possa ser traduzido, eIF4A uma helicase importante no desenrolamento de regiões 5' ainda não traduzidas, e por fim o eIF4G que funciona como ponte à ligação das duas subunidades referidas atrás, à subunidade S40 do ribossoma e ao mRNA, dando-se assim início a tradução.

Constata-se, então, que sem o complexo eIF4F a tradução não pode ser iniciada (67-69, 75, 76).

O processo de síntese do complexo eIF4F é regulado pela disponibilidade de eIF4E para se ligar ao complexo eIF4G e pelo estado de fosforilação do eIF4G. No entanto, existe uma proteína inibidora da ligação do eIF4G ao eIF4E, a 4E-BP1. Para que a 4E-BP1, não tenha a capacidade de se ligar ao eIF4E, a primeira tem de estar fosforilada. O principal responsável por isso será o mTOR (77).

### **Segunda via**

Sabe-se ainda que o mTOR, tem a capacidade de fosforilar a p70s6K, que por sua vez ativa o rpS6, outro fator de iniciação. Este último acontecimento é responsável pela tradução de mRNAs específicos, que codificam componentes importantes para a síntese proteica, tais como o eIF4G, os fatores de alongamento eucarióticos (eEF1 e eEF2) e a poly(A)- binding protein.

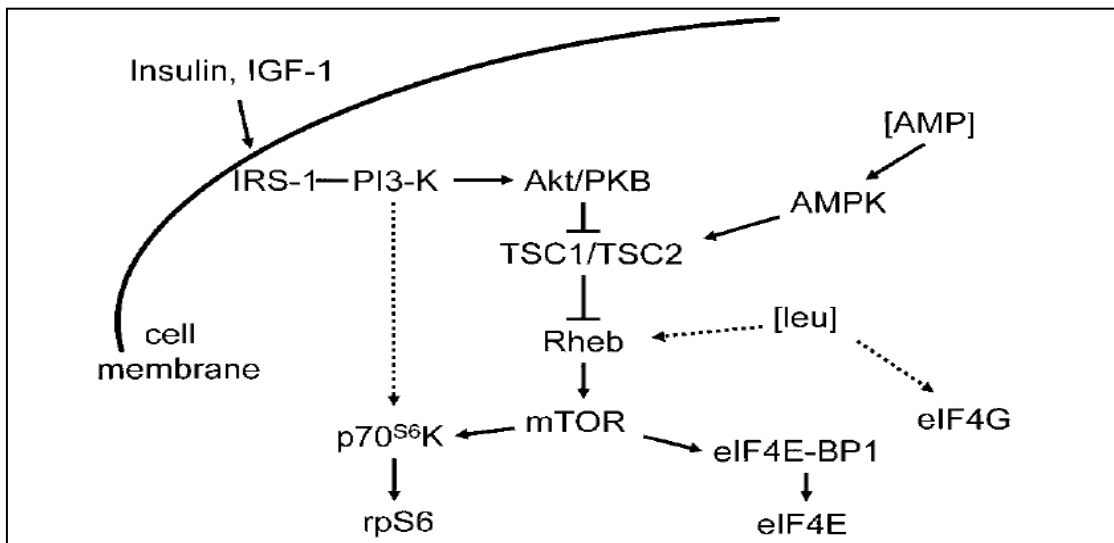
O mTOR é, ainda, regulado por um conjunto de proteínas responsáveis pela sua ação no processo de síntese proteica. Dentro desse grupo, estão presentes o tuberous sclerosis complex (TSC1 e TSC2), Ras homolog enriched in brain (Rheb) e a AMP kinase (AMPK) uma molécula que funciona como um sensor de energia (78-80).

O Rheb, uma Ras-Like GTPase funciona como um controlador positivo do mTOR. Quando se dá a ativação do complexo TSC1/TSC2, o Rheb é inibido, já que o primeiro funciona como Rheb GTPase, convertendo o Rheb-GTP para Rheb-GDP, inibindo assim, a atividade do mTOR e consequentemente a síntese proteica (81).

Já o AMPK atua, inibindo a ação do mTOR. O AMPK é uma molécula que funciona como um sensor para os níveis de energia do organismo, tentando, em estados de hipoxia, isquemia e níveis baixos de glicose, poupar uma maior quantidade de ATP. Sendo a síntese proteica um processo que envolve grande gasto de ATP, pensa-se que o AMPK irá reduzir a síntese, para que possam ser poupadas mais reservas de ATP. Foi proposto que um aumento do AMPK irá promover a ativação do complexo TSC1/TSC2, diminuindo o efeito do Rheb sob o mTOR e consequentemente a síntese proteica (82, 83).

Por fim, é conhecida ainda outra via que pode estimular a síntese proteica pela via mTOR. Sabe-se que tanto a insulina, como fator de crescimento insulina-like (IGF-1) podem ter um papel importante na síntese proteica, já que o aumento de uma ou de outra irá estimular a fosfatidil-inositol-3-quinase (PI3-K) que consequentemente ativará a proteína kinase B (PKB). Esta última atua por duas vias distintas na regulação da síntese proteica: por um lado o PKB tem a capacidade de aumentar a fosforilação do TSC1, e assim reduzir a formação do complexo TSC1/TSC2, que por sua vez atua de forma negativa sobre o Rheb e consequentemente sobre o mTOR, reduzindo a síntese proteica. Por outro, a PI3-Kinase tem a capacidade de ativar diretamente o rpS6, e consequentemente a síntese proteica (84, 85).

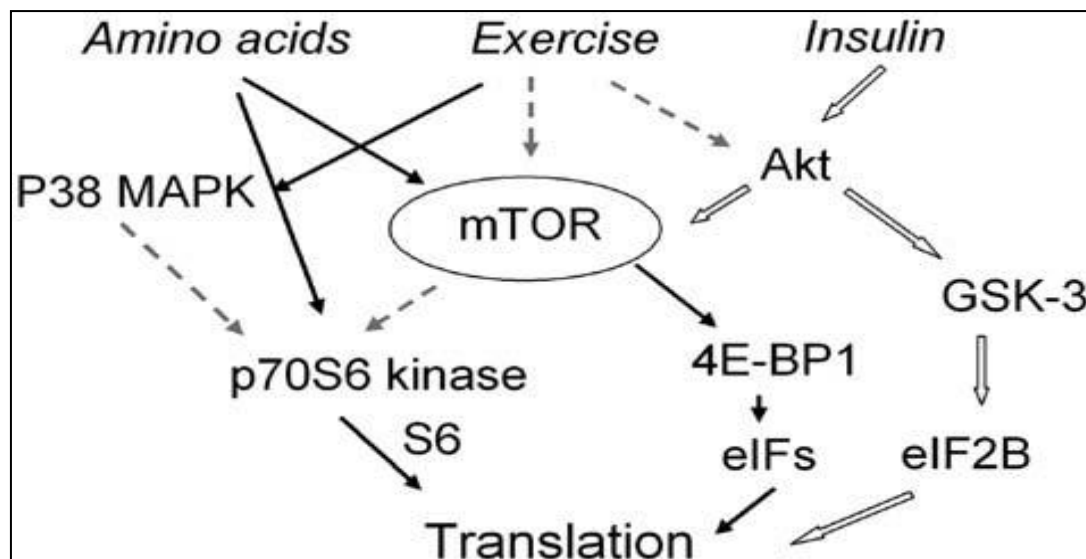




**Fig. 6** Regulação das vias de iniciação da síntese proteica pelo mTOR.

Norton, L., Layman, D. Leucine regulates translation initiation of protein synthesis in skeletal muscle after exercise. 2006; 136(2):533S-537S.

Mais recentemente foi ainda descoberta uma reação que promove a iniciação da tradução da síntese proteica. Esta está dependente da fosforilação e consequentemente da inativação da Kinase sintetase-3 do glicogénio (GSK-3), que por sua vez promove a ativação do fator eucariótico de iniciação 2b (eIF2B), que possivelmente participará, numa via independente do mTOR e assim na promoção da iniciação da tradução de uma proteína (86).



**Fig. 7** Papel do GSK-3 na tradução da síntese proteica

Blomstrand, E., Eliasson, J., Karlsson, H. Branched-chain amino acids activate key enzymes in protein synthesis after physical exercise. *J Nutr.* 2006; 136(1 Suppl):269S-73S.

Vários estudos comprovam que o aumento da concentração de leucina na circulação estimula a síntese proteica (87-89). Considera-se que a leucina pode atuar na síntese proteica por vias dependentes mas também independentes do mTOR. Quanto às vias independentes, pensa-se que será por ativação direta do eIF4G. Um estudo em ratos, suplementados com leucina, demonstrou que níveis elevados de leucina intracelular são concomitantes com aumento da fosforilação do eIF4G. O aumento da fosforilação do eIF4G promove um aumento da ligação do eIF4E ao eIF4G, e uma diminuição da ligação do eIF4E à 4E-BP1 (90, 91).

No que toca aos mecanismos dependentes do mTOR, demonstrou-se que a leucina tem a capacidade de aumentar o estado de fosforilação do mTOR, inibindo a ação do complexo TSC1/TSC2 (92).

Comprovou-se num estudo que a leucina é o BCAA com maior capacidade para estimular a síntese proteica após a realização de ciclismo durante 60 minutos a 60% do VO2 max. Oito adultos foram divididos em dois grupos, um consumia uma bebida com

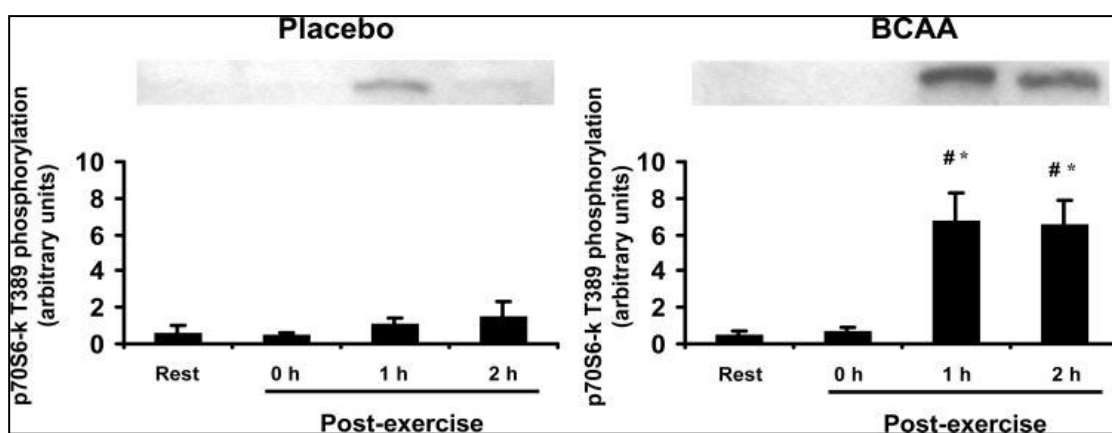
BCAAs, o outro, uma bebida igualmente com BCAAs, mas com níveis de leucina bastante mais elevados comparativamente à valina e isoleucina. As bebidas eram ingeridas durante a prova. No final comprovou-se que o grupo com maior quantidade de leucina na bebida apresentava uma taxa de síntese proteica 33% mais elevada. Foi possível observar que 30 minutos após o exercício, a fosforilação do mTOR e do AKT estaria mais elevada no grupo experimental (93).

## **1.2. Influência do exercício na síntese proteica**

Ao falarmos de EF, temos que ter em conta o ER e o EE. O primeiro provoca uma resposta metabólica depois do exercício que é principalmente anabólica, estimulando por isso a síntese proteica e consequentemente a hipertrofia muscular. O segundo, pelo contrário, apresenta um aumento do catabolismo proteico, como forma de obtenção de energia. No entanto, considera-se que a síntese proteica após a realização deste tipo de exercício não é totalmente nula (94). O ER promove um aumento da força e da área da fibra muscular, provavelmente devido a um aumento da síntese de proteínas miofibrilares, actina e miosina que se pode prolongar por quatro dias após a realização de uma determinada modalidade (95).

Este caracteriza-se por um aumento de fatores de crescimento como IGF-1, que ativa PI3-Kinase e que, por sua vez, estimula o PKB. O PKB tem a capacidade de fosforilar o TSC1, diminuir a produção do complexo TSC1/TSC2, e consequentemente aumentar a síntese proteica pela via do mTOR e fosforilação do p70S6K (96, 97).

Sabendo que um aumento da leucina intracelular promove a síntese proteica, investigadores procuraram comprovar que a suplementação com BCAAs, após a prática de ER, teria a capacidade de aumentar ainda mais a fosforilação do p70S6K, e consequentemente a síntese proteica. Foram, então, selecionados sete homens, com idades entre os 25 e os 26 anos, que praticam EF uma a duas vezes por semana. Foi lhes pedido que realizassem cinco a seis séries de uma repetição de leg press, com 95-100% da sua carga máxima. Entre cada série os participantes poderiam descansar totalmente, para evitar a fadiga muscular. Os indivíduos foram divididos em dois grupos. Um grupo ingeria uma bebida placebo, outro uma bebida suplementada com BCAAs. As bebidas eram ingeridas durante o aquecimento, 30 segundos antes do início da prova, durante a prova, e 15, 30, 60 e 90 minutos após a prova. Foram feitas análises sanguíneas e análise da fosforilação do p70S6K em immunoblot. As análises sanguíneas, demonstraram que ambos os grupos, logo após o exercício, apresentavam níveis de insulina bastante elevados. Podemos, então, considerar que provavelmente a taxa de p70S6K fosforilada estaria aumentada nos dois grupos. O “immunoblot” demonstrou que na primeira e na segunda hora, após a prova, o grupo suplementado com BCAAs, apresentava uma taxa bastante mais elevada de fosforilação do p70S6K (93).



**Fig. 8** Taxa de fosforilação do p70s6k no grupo placebo e no grupo suplementado com BCAAs. Verifica-se o aumento da taxa de fosforilação no segundo grupo, na primeira e segunda hora após o EF.

Karlsson H., Nilsson P., Nilsson J. et al. Branched-chain amino acids increase p70S6k phosphorylation in human skeletal muscle after resistance exercise. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2004; 287(1):E1-7. Epub 2004 Mar 2.

Quanto ao EE, sabe-se que a sua prática diminui a taxa de síntese proteica em proporção com a duração e intensidade aplicadas.

Durante este tipo de exercício, é possível observar um aumento da atividade do AMPK, já que as concentrações de ATP e glicogénio vão estar relativamente baixas. Pode-se, assim, observar um aumento da produção do complexo TSC1/TSC2 que por sua vez inibe o mTOR, e consequentemente as reações de fosforilação pelas quais é responsável. Como consequência observa-se um aumento da afinidade do eIF4E à 4E-BP1, e uma diminuição da ligação do eIF4G ao eIF4E, culminando com uma diminuição do anabolismo proteico. Conclui-se que a suplementação com BCAAs, nomeadamente a leucina, pelos mecanismos dependentes ou independentes do mTOR é essencial para que os níveis de síntese proteica se mantenham elevados logo após o exercício, permitindo uma melhor recuperação do atleta (98, 99).

### **1.3. Lesão Muscular Induzida pelo exercício e BCAAs**

A destruição do músculo-esquelético é um fenómeno que pode ocorrer devido a variados fatores, sendo que na sua maioria (10-55% das lesões musculares) acontecem devido a rutura ou necrose celular (100).

Existem vários marcadores no sangue que nos podem indicar o estado de necrose e de lesão tecidual após a prática de exercício físico, assim como o grau de adaptação bioquímica a uma determinada intensidade de treino. Os dois parâmetros mais utilizados são as enzimas musculares, (CK) e lactato desidrogenase (LDH) cuja concentração sanguínea varia não só após a prática de uma determinada modalidade,

mas também com o sexo, a raça, e o tipo de exercício. Por exemplo, um estudo por biopsia muscular demonstrou que após o ER há um aumento da LDH 5, já nos praticantes de EE será a LDH 1 e 2 que apresentarão o valor mais elevado. Quanto à CK, sabe-se que no músculo esquelético existe predominância da CK3(MM), sendo a elevação deste marcador um dos principais indicadores de necrose e destruição celular. Os mecanismos propostos para este aumento, são caracterizados como mecânicos e metabólicos. No primeiro, considera-se que existe uma fragmentação do disco-Z e consequente degeneração sarcomérica, no segundo, propõe-se que o facto das fibras musculares se encontrarem desgastadas após o exercício físico levará a uma diminuição da resistência da sua membrana, com o consequente aumento de iões cálcio no seu interior e ativação de canais potássio (101-105).

Também o sistema imunitário do atleta sofre alterações após a prática de EF intenso. É possível observar uma temporária imunodepressão que afeta macrófagos, neutrófilos e linfócitos (21, 22).

O EF intenso promove destruição do tecido muscular. Para que seja possível a remodelação deste tecido, o organismo do atleta desenvolve uma resposta inflamatória aguda, autolimitada que pode permanecer durante vários dias se não for feita uma correta recuperação. Por exemplo, em maratonistas, que realizam treinos de alta intensidade, e com curtos intervalos de recuperação, a resposta inflamatória local tende a tornar-se crónica. Como consequência, observa-se uma diminuição dos mecanismos defensivos do organismo. Assim, é possível observar uma inapropriada migração de células do sistema imune (neutrófilos, macrófagos e NK) para o local da inflamação. Este desequilíbrio da resposta inflamatória causado por trauma no tecido muscular promove a libertação de citocinas, que promovem a diferenciação de células T helper naive (TH) em linfócitos TH2 promovendo assim uma imunidade do tipo humoral. Foi,

ainda, demonstrado que um aumento dos TH2 promove uma diminuição dos TH1, e consequentemente a imunidade mediada por células, ficando o atleta mais suscetível a infeções, principalmente do trato respiratório superior. Esta sobre regulação dos TH2 tem como principais responsáveis a interleucina 12 (IL-12) e o interferão gama (IFN-G). Por outro lado, a diminuição da expressão dos TH-1, está ainda associada a um aumento dos níveis de IL-4 e IL-10 (106-108).

Existe ainda a hipótese de que a transaminação reversível – o AA glutamina, formado através do glutamato, obtido da primeira reação do catabolismo dos BCAAs – tem um papel importante como mediador da inflamação (109).

A glutamina é vista como uma fonte de energia para as células natural killer (NK) e linfócitos. É principalmente após o EF intenso que os níveis de BCAAs se encontram muito em baixo, já que foram utilizados como fontes de energia. Assim, não existindo BCAAs, não será possível realizar a reação que levará à formação da glutamina, encontrando-se os níveis deste aminoácido no plasma diminuídos após o exercício. As alterações no sistema imunitário dos atletas aumentam o risco de infeções do organismo, sendo as do trato respiratório superior as principais nos desportistas (109).

Para comprovar o efeito benéfico dos BCAAs no sistema imunitário, foi feito um estudo em que participaram atletas praticantes de triatlo (N=12) e corrida (N=24), ambas modalidades que exigem treinos de alta intensidade. Os atletas de ambas as modalidades apresentavam idades compreendidas entre os 20 e os 30 anos. Decidiu-se colher amostras de sangue e avaliar determinados parâmetros relacionados com a inflamação, tais como os níveis plasmáticos de glutamina, a resposta proliferativa de linfócitos periféricos e a produção de INF-gama, e IL-4 antes e depois da realização de uma prova específica para cada modalidade. Para os corredores, uma prova de 30 KM que deveria ser cumprida em duas horas, para os praticantes de triatlo, o clássico OLYMPIC

Triathlon (1,5km a nadar, 40 km na bicicleta e 10 Km a correr). Os atletas de triatlo foram suplementados com BCAA ou uma bebida placebo durante 30 dias. Já os maratonistas durante 15 dias. Não foi feita qualquer alteração no plano alimentar dos atletas. A suplementação era feita duas vezes ao dia após cada sessão de treino para os do triatolo, enquanto que os corredores tomavam apenas uma dose diária. Conclui-se que os atletas de ambas as modalidades a cumprir suplementação conseguiram manter, após a prova, os níveis de glutamina constantes e uma resposta proliferativa dos linfócitos aumentada. É importante referir que, durante o repouso, ou seja antes das provas terem inicio, apesar do grupo suplementado apresentar níveis mais estáveis que o grupo de controlo, a resposta proliferativa dos linfócitos não sofria qualquer alteração.

Quanto aos níveis de InF-gama e IL-4 produzido pelos monócitos, foi possível observar que existia um aumento da produção do primeiro e uma diminuição do segundo promovendo uma resposta imune do tipo TH1 (110).

Como consequência dos mecanismos de destruição e inflamação muscular após a prática de EF temos a Delay Onset Muscle Soreness (DOMS). Esta é caracterizada como sendo um síndrome que ocorre 24 -48 horas após a prática de exercício físico, relacionada com lesão das fibras musculares e/ou trauma do tecido conjuntivo, acompanhada de rigidez e dor com a realização de um determinado movimento. Esta síndrome atrasa a recuperação muscular e é mais intenso aquando da realização de contrações musculares excêntricas.

A resposta à dor é bifásica, a primeira fase relacionada com o estímulo mecânico do próprio exercício, e a segunda devido à inflamação das componentes de tecido conjuntivo do músculo (111).

Nosaka et al demonstraram que o consumo de uma solução de BCAAs (60%), logo após a realização de EF e durante os quatro dias seguintes, tem a capacidade de diminuir



a DOMS e o grau de destruição muscular. Os parâmetros referidos, foram estudados, em vários tipos de EF, tais como o de ER e o de EE (112).

### **1.3.1. A DOMS e o exercício de endurance**

A prática de EE promove um aumento da oxidação dos BCAAs, para que haja um aumento dos mediadores de reações como o ciclo de Krebs e a glucogenolise (57, 58). Assim, é possível observar um aumento da atividade proteolítica, com conseqüente diminuição da massa muscular e aumento dos marcadores de destruição do tecido muscular. A evidência referida foi comprovada em ultramaratonistas. Por outro lado, a suplementação com BCAAs e proteínas, demonstrou uma diminuição dos parâmetros de destruição muscular e um aumento da síntese proteica em ciclistas.

Um estudo baseado numa maratona de 100 km, com a duração de dois dias, e com estações de serviço a cada 5-10km (n=17), onde participaram 28 atletas do sexo masculino, tinha como objetivo demonstrar o benefício da toma de BCAAs na redução da DOMS e da concentração plasmática dos marcadores de destruição do tecido muscular, antes e durante a prova referida. Os participantes foram divididos em 2 grupos. Um de controlo, que durante o exercício realizava apenas hidratação e alimentação com os produtos oferecidos pelas várias estações (bebidas desportivas hipotónicas, chá, sopa, água, bananas, laranjas, barras energéticas e pão), e um outro que tomava BCAAs em forma de comprimidos (n=12) antes de iniciar a prova e ainda em cada estação que passavam. No total, cada um ingeriu 50g de BCAAs. No final do estudo concluiu-se que os BCAAs não diminuíram os níveis de enzimas musculares assim como o grau de DOMS, sugerindo assim que a suplementação com BCAAs pré e durante o exercício de endurance não afeta os parâmetros acima descritos. Atribuíram-

se estes resultados ao facto de os treinos realizados para esta prova terem criado no músculo um efeito protetivo contra a sua destruição. Quanto ao grau de DOMS investigadores consideraram que, a subjetividade da escala utilizada, compreendida entre 0 e 20 em que 0 corresponde à ausência de dor e 20 ao de máximo de dor, assim como o timing da sua aplicação (primeiro minuto após a conclusão da prova) foram fatores preponderantes nos resultados obtidos (113).

Por outro lado, procurou-se provar que, apesar de uma alimentação equilibrada em que estão presentes os níveis adequados de BCAAs (0.64g/kg), a suplementação com estes aminoácidos tem de facto um efeito positivo na diminuição dos níveis de CK e LDH plasmáticos, ambos marcadores de destruição muscular. Foram selecionados 16 indivíduos do sexo masculino. Todos eles realizavam diariamente uma alimentação equilibrada, suprimindo de forma adequada as necessidades em BCAAs. Os participantes foram divididos em dois grupos. Um tomava uma bebida suplementada com BCAAs, enquanto que o grupo de controlo apenas realizava a sua alimentação normal. O estudo foi feito durante 14 dias. Ao 7º dia os participantes realizavam uma prova de esforço em bicicleta durante 120 min a 70% do Vo<sub>2</sub> max. Foram recolhidas amostras sanguíneas antes do início da prova e 1h, 2h, 3h, 4h, 1dia, 3dias, 5dias e 7 dias após a realização da mesma. A conclusão a que se chegou foi que apesar de ao 7º dia após o exercício não existir diferença entre os valores dos marcadores musculares, a CK após 4h até 5 dias pós o exercício, e a LDH 2 horas até 5dias pós o exercício, se encontravam em valores mais baixos nos suplementados com BCAAs. Concluiu-se, então, que os BCAAs podem reduzir o grau de destruição muscular (114).

Num outro estudo onde participaram doze atletas corredores de longas distâncias, seis homens e seis mulheres, foi testado o efeito da suplementação com BCAAs, no grau de fadiga e DOMS, após três dias de treinos intensivos, em que os homens teriam de correr

cerca de 86km, e as mulheres 64 Km. Para a avaliação dos parâmetros referidos, foi utilizada uma escala visual de dor (EVA). Mais uma vez, os indivíduos foram divididos num grupo placebo e num grupo suplementado com BCAAs. Deste estudo concluiu-se que apesar de no primeiro dia não existir diferenças entre o grupo controlo e o grupo que consumiu BCAAs, há medida que os dias de treino avançavam, o grupo de controlo demonstrava um maior grau de fadiga e DOMS, comparativamente ao grupo suplementado (115).

### **1.3.2. A DOMS e o exercício de resistência**

O ER consiste num conjunto de contrações musculares de alta intensidade. Estas contrações podem ser de alongamento ou de encurtamento. Sabe-se que as primeiras causam um estímulo neuromuscular mais potente que as segundas, sendo no entanto causa mais frequente de destruição de tecido muscular. Como consequência, observa-se uma redução na função neuromuscular, uma diminuição da amplitude de movimento, o aumento do nível de proteínas musculares no sangue e um aumento da DOMS, o que no seu conjunto levará a uma consequente diminuição da performance nos dias seguintes (116-118).

Neste tipo de exercício há tendência a criar microrroturas, cuja gravidade estará relacionada com as cargas usadas, com a intensidade e com o grau de alongamento. O resultado será uma diminuição da força, um aumento da tensão passiva e da DOMS (117).

Ora, com base na teoria de que a suplementação com BCAAs tem a capacidade de aumentar a síntese proteica, e diminuir a taxa de proteólise após o EF, um estudo tentou demonstrar a eficácia dos BCAAs na recuperação de atletas após exercício de

resistência de alta intensidade. Os voluntários eram 12, do sexo masculino, com idades entre os 21 e 25 anos. Todos eram atletas de alta competição, praticantes de rugby ou futebol, que realizavam por semana pelo menos dois treinos de resistência.

O estudo decorreu durante 12 dias. Existiam dois grupos, um placebo e outro suplementado com BCAAs. Os participantes consumiam cerca de 10g de cada bebida duas vezes por dia. No 8º dia realizou-se uma prova que consistia em 5 series de 20 “drop jump” de uma altura de 0.6m, seguido cada um de um salto vertical. Os parâmetros analisados seriam a DOMS, a concentração sérica de ck e a “Maximal voluntary Force”. A colheita dos valores das variáveis referidas era feita antes do exercício, e em intervalos de 24h até às 96h após o exercício.

Mais uma vez se conclui que, apesar de existir alguma homogeneidade nos valores da ck, provavelmente devido ao treino realizado por estes atletas ao longo da sua carreira, o grupo com BCAAs apresenta menor quantidade de C plasmática. Em estudos realizados entre sujeitos não treinados observa-se uma variabilidade muito maior. Deste modo, considera-se que o treino cria no músculo um efeito protetivo contra a destruição do tecido muscular. A este fenómeno dá-se o nome de “repeated bout effect”

Quanto à DOMS conclui-se que, apesar do pico máximo em ambos os grupos acontecer às 48 horas, o grupo suplementado com BCAAs, apresentava em todas as medições menor intensidade de dor. A DOMS foi avaliada, pedindo aos participantes que realizassem e permanecessem na posição de agachamento, marcando numa EVA, o seu grau de dor.

Quanto à maximum voluntary contraction (MVC), em ambos os grupos o valor mais baixo é atingido às 24h. Às 72h a MVC apresenta valores próximos do padrão de cada um. Foi comprovado que os atletas que consumiam BCAAs apresentavam em qualquer altura da medição valores mais altos de MVC, concluindo-se que este grupo recuperou

do esforço realizado mais rapidamente. Em contraste com outro estudo em que foram utilizados sujeitos não treinados foi possível constatar que a recuperação em indivíduos que praticam EF regular é mais rápida, sendo que cerca de 90% desta população, às 72 h já se encontravam recuperados. Por outro lado, em sujeitos sem hábitos de treino, apenas 60% da população se encontrava recuperada às 72 h (112).

Num outro estudo, baseado no facto de os BCAAs consumidos antes da realização de EF diminuírem a proteólise do tecido muscular e conseqüentemente a DOMS foram seleccionados 16 mulheres e 14 homens não praticantes de EF, com idades entre os 21 e os 24 anos. Para este fim foi escolhido o agachamento. A prova consistia em 7 séries de 20 agachamento (140 no total) promovendo assim a fadiga e conseqüentemente a DOMS. Os participantes foram divididos em dois grupos: um consumia uma bebida suplementada com BCAAs (os homens consumiam 77mg/kg e as mulheres 92mg/kg de BCAAs), o outro consumia um placebo em que os BCAAs eram substituídos por 5g de dextrina. O consumo foi realizado 15 minutos antes do início da prova. No fim do estudo conclui-se que o grupo de mulheres que tomava os BCAAs apresentava um menor grau de DOMS que as do grupo que ingeriu o placebo. Apesar da DOMS estar presentes em ambos os grupos, apresentando o seu pico máximo 24 horas após a realização da prova, o grau de DOMS foi sempre mais baixa que no grupo placebo, principalmente nos dias 3 a 5. Por outro lado, no que toca ao sexo masculino, o grau de DOMS foi semelhante em ambos os grupos, refutando a teoria de que a toma de BCAAs antes da realização de EF diminuiria a intensidade da DOMS. Para explicar estes resultados, considerou-se que a quantidade de BCAAs por peso corporal (77mg/KG) atribuída ao sexo masculino não seria suficiente, já que a massa corporal do homem é mais alta que a da mulher (119).

Foi ainda realizado um estudo com base no potencial que os BCAAs e a glicose apresentam na síntese proteica após o EF. Este baseou-se noutra pesquisa onde se comprovou que a associação de hidratos de carbono (glicose) e BCAAs aumentava ainda mais a taxa de síntese proteica, comparativamente às duas substâncias na sua forma isolada. Assim, o objetivo da investigação foi observar o grau de DOMS após exercício de resistência, em indivíduos suplementados ou com glicose (5,6 g dextrose), definida como placebo, ou com a associação de BCAAs e glicose (1,25g de BCAAs e 5,6 g de dextrose). Para isso foram recrutados 20 participantes, 9 homens e 11 mulheres, com idades entre os 18 e 25 anos, praticantes de EF com grau de intensidade leve a moderado e com duração de menos de uma hora.

Foi-lhes questionado o grau de dor antes de iniciarem a prova. A prova consistia em três séries de 12 agachamentos, com intervalo de um minuto entre cada série. Após terminarem, a DOMS, era validada. O consumo de ambas as soluções era feito logo após a medição da DOMS e durante um período de 4 dias, com intervalos de 24h, após a realização da prova. No final concluiu-se que para o sexo feminino a associação de BCAAs e glicose diminuiu o grau de DOMS 24 horas após o exercício. Por outro lado no sexo masculino, não foram observadas diferenças no grau de DOMS. Provavelmente, terão de ser feitos estudos em que a toma do BCAAs seja por kg de peso corporal e não com uma dose definida, neste caso 1.25 g BCAAs e 5.6g de glicose (120).

#### **1.4. Fadiga Central e BCAAs**

O EF é uma atividade que promove alterações nas concentrações de alguns neurotransmissores (NT), tais a serotonina (5-HT), a noradrenalina (NA) e a dopamina. As modificações referidas têm lugar normalmente nas fases finais do EF. Aumentam a

sensação de fadiga associada a uma diminuição da motivação, impedindo muitas vezes o atleta de continuar uma determinada prova ou treino.

Há já 20 anos procurou-se encontrar uma forma de conseguir manipular a neurotransmissão e assim atrasar o início da fadiga, durante o EF mais intenso (121).

Os BCAAs participam direta e indiretamente em importantes processos bioquímicos realizados no cérebro. A síntese de NT monoaminérgicos, tais como a NA, a DA e a 5-HT, são exemplos dos processos referidos. Os aminoácidos aromáticos, triptofano (TRP), tirosina (TYR) e fenilalanina (PHE), são os substratos essenciais para a síntese do NT referidos. O primeiro é utilizado na síntese de 5-HT, o segundo na síntese de NA e DA. Estes NT são responsáveis pelo comportamento e pela forma de agir em determinadas situações (122).

Sabe-se que os AA são substância com capacidade de ultrapassar a barreira hematoencefálica (BHE), e assim passar do plasma para o SNC. São vários os sistemas de transporte utilizados pelas variadas substâncias que circulam no sangue, para entrarem no SNC, através da BHE. O transporte pode ser realizado por difusão passiva, nomeadamente as moléculas lipídicas solúveis; por transportadores seletivos dependentes da energia da bomba  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  - ATPase; ou por canais iónicos ativos. No caso dos aminoácidos aromáticos TRP, TYR e PHE, é utilizado um transportador seletivo (LNAA-T). O transporte através do LNAA-T, está dependente das concentrações de um determinado aminoácido no plasma, mas também da concentração de outros aminoácidos, que competam com o primeiro para se ligar ao transportador. Por exemplo, se existir uma elevada concentração de TRP no plasma, maior é a quantidade deste aminoácido a ultrapassar a barreira, promovendo também um aumento da atividade serotonérgica. Concluiu-se, então, que as alterações na concentração destes aminoácidos no plasma, promovem também alterações na síntese dos NT DA, 5-HT e

NA, que por sua vez produzem no humano alterações do foro psicológico, que num atleta se podem refletir em alteração da sua performance (123).

Sabe-se que os BCAAs, partilham do mesmo transportador que os aminoácidos aromáticos, interferindo assim com a síntese de NT monoaminérgicos. Vários estudos, realizados com o apoio de técnicas de microdiálise cerebral, demonstraram que uma hora de exercício, está associado a aumento dos níveis extracelulares de 5-HT no hipocampus. Provou-se ainda que a infusão de valina, teria a capacidade de suspender o aumento do NT referido (124).

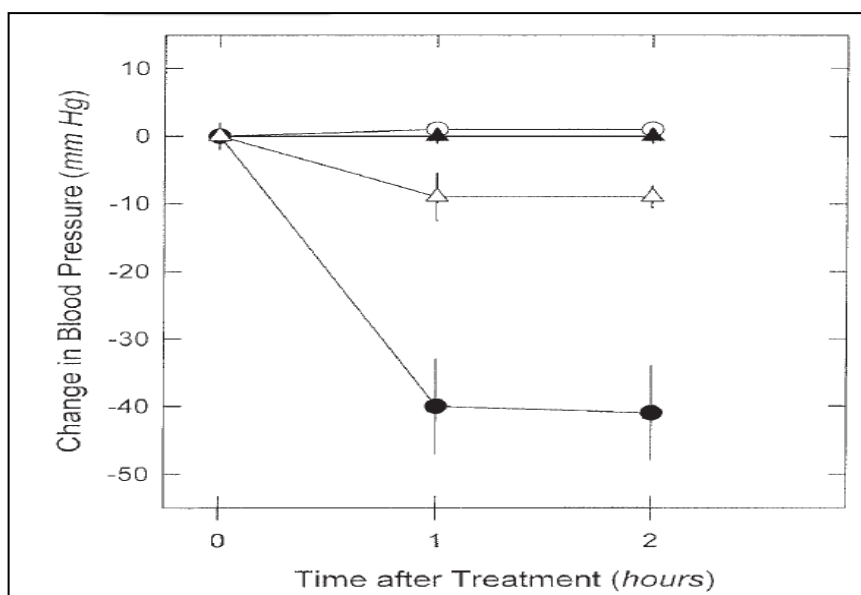


Fig. 9 Variações da pressão arterial em ratos, após a infusão de TYR (circulo preto); Valina (triangulo preto); TYR e Valina (triângulo branco) e um veículo (circulo branco)  
Fernstrom, J. Branched-chain amino acids and brain function. *J. Nutr.* 2005; 135(6 Suppl):1539S-46S

Outro estudo, realizado com ratos hipertensos demonstrou que a valina teria a capacidade de contrariar o efeito anti-hipertensivo da tirosina. Foram administradas quatro injeções, uma com valina, outra com valina e tirosina, outra com tirosina e por fim um “veículo”. A tensão arterial foi medida antes e uma e duas horas após a



administração das injeções. No final constata-se que a tirosina associada à valina tem menor efeito anti-hipertensor que na sua forma isolada (125).

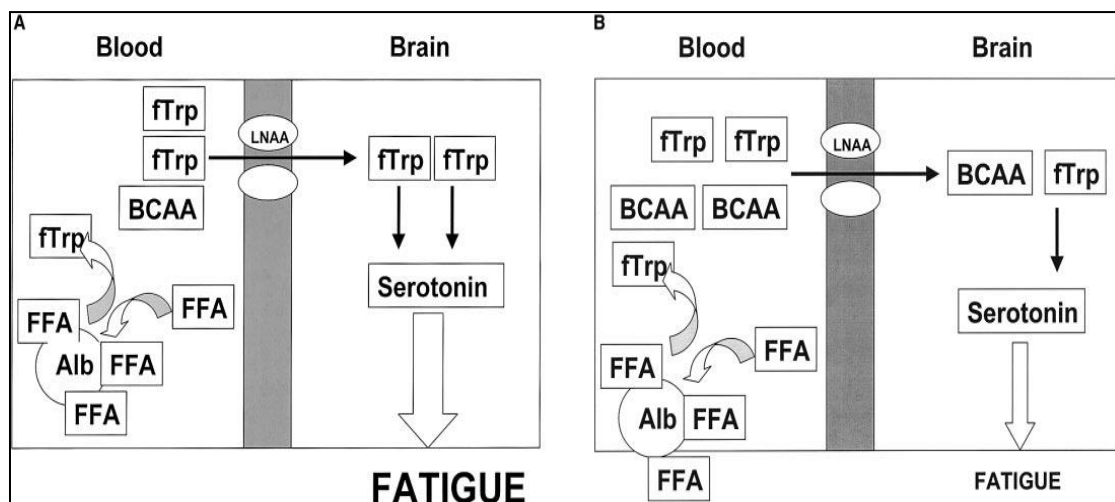
Newsholme associou a fadiga, a um aumento da atividade serotoninérgica, já que a 5-HT é um NT responsável por sensações como a letargia e o cansaço, participando ainda no controlo do sono, do humor, do apetite e algumas emoções. A esta hipótese foi ainda associada a possibilidade das catecolaminas DA e NA, apresentarem também um papel importante na indução da fadiga (122).

Como foi já referido, o TRP é essencial para a síntese da 5-HT. No plasma, o TRP, encontra-se normalmente ligado à albumina. Apenas 20-30% se encontram livres. Para o TRP ultrapassar a BHE, este precisa de permanecer na sua forma livre. Os FFAs apresentam afinidade para o mesmo local de ligação do TRP à albumina. Quanto maior a concentração de Free Fatty Acids (FFAs) no plasma, maior a concentração de TRP na forma livre. O exercício extenuante está associado a uma diminuição das reservas de glicogénio muscular e hepático. Assim, como forma de obtenção de energia, a lipólise do tecido adiposo, mediada pela adrenalina, está também aumentada. Consequentemente a concentração de FFAs e de TRP livre no plasma aumenta. Ao mesmo tempo, a taxa de produção de 5-HT vai também apresentar-se aumentada no SNC, já que o TRP não ligado à albumina tem maior capacidade de ultrapassar a BHE. Num atleta, as reações referidas, vão ser expressas como diminuição da tolerância à dor e ao esforço, desconforto, diminuição da motivação e perda de concentração (123).

À hipótese de Newsholme, Davis e Bailey, atribuíram ainda à DA um papel fulcral no início da fadiga. A DA é um NT responsável pelo controlo da memória, atenção, recompensa e motivação. Considerou-se que um aumento do rácio 5-HT:DA estaria associado a um aumento da sensação de cansaço e fadiga. Estudos com base em fármacos, como as anfetaminas, que interferem com os recetores de DA no SNC, foram

a base para esta teoria. Para além disso, sabe-se que a DA atua no núcleo caudado e no núcleo accumbens, sendo responsável pelo controlo de movimentos voluntários e pela locomoção, aspetos importantes para a performance de um atleta (126, 127).

A suplementação com BCAAs foi testada em vários atletas como a forma de diminuir os efeitos serotoninérgicos, responsáveis pela fadiga central durante o exercício. Teoricamente, um aumento da concentração de BCAAs no plasma, diminui a capacidade do TRP livre se ligar aos recetores do LNAA-T, já que ambos os AA competem entre si pelo mesmo local de ligação no transportador. Assim, a um aumento do rácio TRP livre: BCAAs plasmático associasse um aumento da produção de 5-HT e consequentemente aumento da fadiga (121).



**Fig. 10** Transporte dos BCAAs e de outros aminoácidos aromáticos através da BHE

Gleeson, M.. Interrelationship between physical activity and branched-chain amino acids. *J. Nutr* 2005; 135 (6Suppl): 1591S-5S.

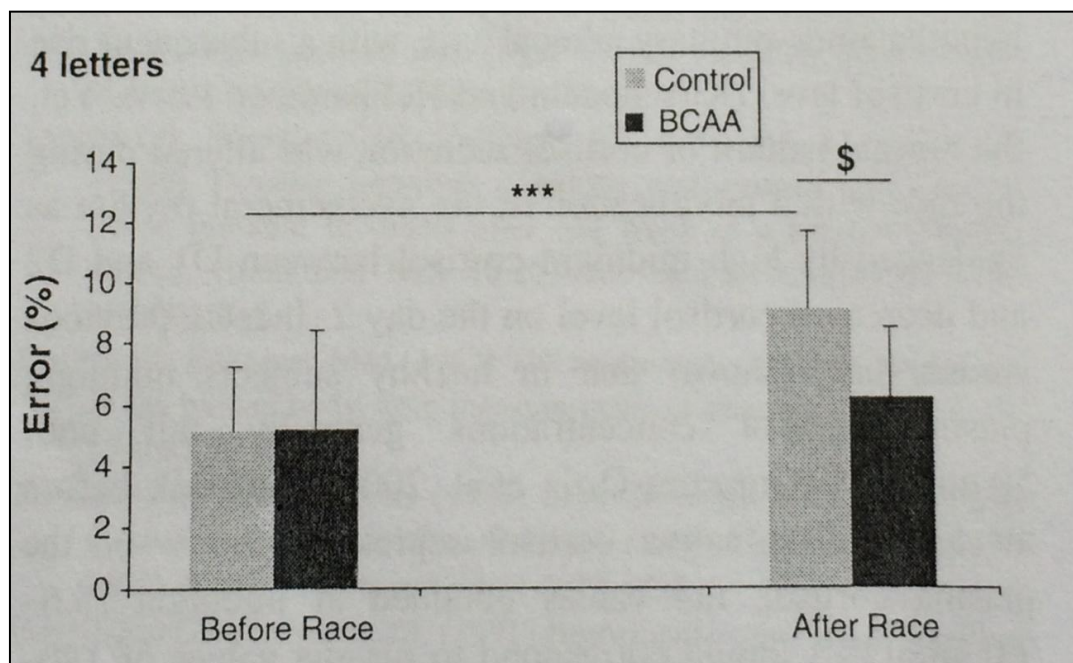
No entanto, após vários estudos, em que grupos de indivíduos eram submetidos a provas constituídas por exercícios de alta intensidade, que levavam os sujeitos à exaustão, não

foi comprovado que os BCAAs pudessem alterar a sensação de desconforto, fadiga, ou o grau de motivação dos atletas (128, 129).

Por outro lado Mittleman e al. consideraram que existia uma variável em comum em todos os estudos realizados, a temperatura (10-20° C). Por isso, decide realizar um novo estudo a uma temperatura de 34° C. Da sua experiência foi possível concluir que 14% da população em estudo, melhorou a sua performance para EF realizado a 40% VO<sub>2</sub> max. Este último estudo foi baseado numa experiência que comprovou que a hipertermia teria a capacidade de alterar a neurotransmissão no SNC (130).

Foi ainda realizado um estudo, em que participaram 12 atletas de alta competição, praticantes de corridas de barco de longa duração. Treinavam há já 10 anos durante pelo menos 10 horas por semana. Estes atletas foram divididos em dois grupos, cada um com seis elementos. Os grupos iriam competir entre si durante 33 horas numa corrida de barcos ao largo da costa. Foram utilizados dois barcos com as mesmas características. De forma aleatória foram escolhidos o grupo placebo, que realizava uma alimentação estipulada pelos investigadores (58% hidratos de carbono, 30% gordura e 12% proteínas), e o grupo que consumia BCAAs. Este último, realizava uma alimentação igual à do grupo placebo, à exceção da toma de BCAAs dissolvidos em água de 6 em 6 horas. Os parâmetros avaliados durante a prova foram, os níveis de cortisol na saliva (foram colhidas 12 amostras a cada atleta), a performance, com base na força de pressão manual e no salto vertical, a fadiga, com base numa EVA e a memória. Quanto aos níveis de cortisol e performance, não existiram variações relevantes entre o grupo placebo e o grupo suplementado. Quanto à fadiga foi possível observar que no 2º dia de corrida, o grupo placebo apresentava um grau mais elevado neste parâmetro. Já o teste de memória, que consistia em contabilizar a percentagem de erros cometidos pelos participantes num teste de memorização de letras, observou-se que o grupo

suplementado com BCAAs apresenta uma menor percentagem de erros após a corrida (131).



**Fig. 11** Percentagem de Erros dos dois grupos no teste de memória, antes e depois da corrida.

Portier, H., Chatard, J., Filaire, E. Effects of branched-chain amino acids supplementation on physiological and psychological performance during an offshore sailing race. *Eur J Appl Physiol.* 2008; 104(5):787-94.

## 2. Conclusão

Os efeitos dos BCAAs na condição física de um atleta têm vindo a ser alvo de investigação há mais de 30 anos. No entanto devido aos resultados, muitas vezes inconclusivos e contraditórios, o estudo dos efeitos fisiológicos dos BCAAs no organismo humano, continuam a ser um motivo de estudo para muitos investigadores. Várias experiências *in vitro* e em animais demonstram que os BCAAs, teoricamente, têm influência em mecanismos moleculares essenciais para a recuperação e aumento de rendimentos de um atleta. Dentro dos processos moleculares referidos, os principais serão o ciclo de Krebs, onde atuam como substrato para reações como a anaplerosis; a síntese proteica, essencial para uma melhor e mais rápida recuperação associada a diminuição da intensidade da DOMS e da fadiga central. No entanto, estudos realizados em humanos, apresentam muitas vezes resultados que contradizem as experiências *in vitro* e/ou em animais. Esta discordância é justificável pelas metodologias utilizadas e pelas características das variáveis a ter em conta em próximos estudos sobre os BCAAs. Assim, o controlo da nutrição dos indivíduos em estudo, a sua massa corporal, o sexo, a frequência da prática de EF, as características de treino, a constituição das bebidas placebo, a temperatura ambiente e muitas outras variáveis devem ser tidas em conta em próximos trabalhos, para que se possam obter resultados mais uniformes e credíveis. Desta revisão de artigo, foi possível retirar a ideia de que, teoricamente, os metabolitos resultantes da reação do catabolismo dos BCAAs e os próprios BCAAs participaram diretamente e indiretamente no ciclo de Krebs e no transporte de AA aromáticos para o SNC através da BHE, respetivamente. No entanto, estudos práticos relacionados com o

efeito dos BCAAs no aumento da energia e na atenuação da fadiga central de um atleta são contraditórios, já que carecem de aplicabilidade no treino. Por outro lado, no que toca às investigações relacionadas com a diminuição da intensidade e duração da DOMS, os resultados demonstram um carácter mais fidedigno e similar às considerações teóricas. Assim, este suplemento pode ser considerado pela medicina desportiva, como uma estratégia terapêutica a utilizar na aceleração do processo de recuperação muscular de um atleta de reduzindo o risco lesional e a perceção da fadiga.

## **Agradecimentos**

Chegou o momento de expressar a minha gratidão às pessoas que contribuíram para a concretização deste trabalho, já que a sua colaboração foi decisiva.

Ao Sr. Professor Doutor Manuel Teixeira Veríssimo, agradeço a sua orientação e disponibilidade. Foi um privilégio, tê-lo tido como orientador.

Gostaria, também, de destacar, o apoio da Dr.<sup>a</sup> Helena Donato, Dr.<sup>a</sup> Elvira Rafael e Dr.<sup>a</sup> Catarina Lopes, bibliotecárias da Biblioteca Geral do CHUC, pela sua disponibilidade e colaboração.

Quero, também, agradecer, em especial, à minha mãe Graça Maria Lourenço e ao meu pai o apoio e incentivo que me deram ao longo desta jornada.

## Referências bibliográficas

- (1) CHUNG, M., et al. “A critic of the concept of quality of life”. *International Journal of health care quality assurance*, 1997; 10: 2, 80-84.
- (2) GARROW, J., JAMES W, RALPH A. “Human Nutrition and Dietetics”, 10th Edition, Edition Churchill Livingstone, 2000; 471-79.
- (3) BRUHN, J. “Life-style and health behavior”; in D. S. Gochman (Ed.), *Health behavior: Emerging Research Perspectives*, New York: Plenum Press, 1988; 71-86.
- (4) BERGER, B., MacINMAN, A. “Exercise of quality of life”. In: SINGER, R. et al. *Handbook of research on sport psychology*. New York: MacMillan, 1993; 34: 729-60
- (5) PINHEIRO J. Lesão desportiva. Conceitos introdutórios; in “Reabilitação das lesões no desporto”. 9-26, Editorial Caminho SA. 2006; ISBN 972-21-1817-X
- (6) DISHMAN, R., SALLIS, J. “Determinants and interventions for physical activity and exercise”; in C. Bouchard, R. Shepherd y T. Stephens (Eds.), *Physical activity, fitness, and health*. Champaign, Illinois: Human Kinetics, 1994.
- (7) DUNN, A., MARCUS, et al. “Comparison of lifestyle and structured interventions to increase physical activity and cardio respiratory fitness”. *A randomized trial. JAMA*, 1999 ; 281(4): 327-334.
- (8) PAFFENBARGER, R., WING, A., HYDE, R. “Physical activity as an index of heart attack risk in college alumni”. *Am J Epidemiol*, 1978; 108:161-175.



(9) CASPERSEN, C., POWELL, K., CHRISTENSEN, G. “Physical activity, exercise, and physical fitness: definitions and distinctions for health-related research”. *Public Health Reports*, 1985; 100: 126–131.

(10) GREENHAFF, P., TIMMONS, J. “Interaction between aerobic and anaerobic metabolism during intense muscle contraction”. *Exerc Sport Sci Rev*, 1998; 26: 1-30.

(11) SIDNEY, K., NIINIMA, V. et al, “Attitudes towards exercise and sports: Sex and age differences, and changes with endurance training”. *Journal of Sports Sciences*, 1983; 1(3): 195-210.

(12) WILLIAMS, M. BRANCH, D. “Creatine supplementation and exercise performance”: an update. *Journal American College of Nutrition*, 17, 3: 1998; 216-234.

(13) JUHN, M. Popular “Sports Supplements and Ergogenic Aids”. *Sports Med*, 2003; 33(12): 921-939.

(14) LUKASKI, H. C. “Vitamin and mineral status effects on physical performance”. *Nutrition Grand Forks*, 2004; 20: 7-8, p 632-644.

(15) University of Calgary, Department of Chemistry, Organic Chemistry On-Line Learning Center, Chapter 27: “Amino Acids, Peptides and Proteins”: Summary

(16) HARPER, A., MILLER, R. “Branched-chain amino acid metabolism”. *Annu Rev Nutr*. 1984; 4:409–54.

(17) GLEESON, M. “Interrelationship between Physical Activity and Branched-Chain Amino Acids”. School of Sport and Exercise Sciences, Loughborough University, Loughborough, Leicestershire, LE11 3TU, England, UK *Nutrition Journal*, 2005; Bd. 135 (6), S. 1580S-1584S

(18) BLOMSTRAND, E., HASSMEN, et al. “Administration of branched-chain amino acids during sustained exercise – effects on performance and on plasma concentration of some amino acids”. 1991; Eur. J. Appl. Physiol. 63: 83– 88.

(19) American Dietetic Association. Position of the American Dietetic Association, Dietitians of Canada, and the American College of Sports Medicine: “Nutrition and Athletic Performance”. 2000; J Am Diet Assoc; 100:1543-56.

(20) FERREIRA, M., Li, R., Cooke, M., Kreider R., Willoughby, D. “Periexercise coingestion of branched-chain amino acids and carbohydrate in men does not preferentially augment resistance exercise-induced increases in phosphatidylinositol 3 kinase/protein kinase B-mammalian target of rapamycin pathway markers indicative of muscle protein synthesis”. Nutr Res. 2014 34(3):191-8. doi: 10.1016/j.nutres.2013.12.007. Epub 2014; PMID: 24655485]

(21) SHEPHARD, R. Physical Activity, “Training and the Immune Response”, 1997; Cooper, Carmel, IN.

(22) MACKINNON, L. “Advances in Exercise and Immunology”. Human Kinetics, Champaign IL, 1999

(23) SPIERING, B. A., KRAEMER, W. J. et al., “Resistance exercise biology: manipulation of resistance exercise programme variables determines the responses of cellular and molecular signaling pathways”, Sports Medicine, 2008; 38, 7, 527–540.

(24) ZANCHI, N., NICASTRO, H., et al. “Potential antiproteolytic effects of L-leucine: observations of in vitro and in vivo studies”, Nutrition and Metabolism, 2008; 5, 1, 20.

(25) NICASTRO, H., ARTIOLI, G., et al., “An overview of the therapeutic effects of leucine supplementation on skeletal muscle under atrophic conditions,” Amino Acids, 2011; 40, 2, 287–300.

(26) . PAUL, G., GAUTSCH, T., LAYMAN, D. “Amino acid and protein metabolism during exercise and recovery”, Wolinsky I. Nutrition in exercise and sport. 3rd ed. Boca Raton, FL: CRC Press; 2002; 125–158.

(27) SHARP CP, PEARSON DR: “Amino acid supplements and recovery from high intensity resistance training”. J Strength Cond Res 2010; 24(4):1125-1130.

(28) TIPTON, K., WOLFE, R. “Exercise-induced changes in protein metabolism”. Acta physio scand 1998; 162:377-87.

(29) RENNIE, M J, TIPTON K D. “Protein and amino acids metabolism during and after exercise and effects of nutrition”. Annu Rev NUTR 2000; 20: 457-83

(30) FIELDING, R., PARKINGTON, J. “What are the dietary protein requirements of Physically actives individuals? New evidences on the effects of exercise on protein utilization during post-exercise recovering”. Nutr Clin Care 2002; 5: 191-6

(31) ARMSTRONG, R. “Muscle deamage and endurance events”. Sports Med 1986; 3:370-81

(32) ARMSTRONG, R. “Mechanisms of exercise-induced delayed onset muscle soreness: a brief review”. Med SCi Sports Exerc 1984; 16:529:-38

(33) FRIDEN, J., SJOSTROM M., EKBLÖM B. “A morphological study of delayed muscle soreness”. Experientia 1981; 37:506-7.

(34) SURYAWAN, A., HAWES, J., et al. “A molecular model of human branched-chain amino acid metabolism”. 1998; Am. J. clin . Nutr. 68: 72-81

(35) DAIKHIN, Y. & YUDKOFF, M. “Compartmentation of brain glutamate metabolism in neurons and glia”. J. Nutr. 2000; 130: 1026S-1031S.

(36) FERNSTROM, J., “Aromatic amino acids and monoamine synthesis in the central nervous system: influence of the diet”. *J. Nutr. Biochem.* 1990; 1: 508-517

(37) RENNIE, M. “Influence of exercise on protein and amino acid metabolism. In: *Handbook of Physiology*” Sect. 12: Exercise: Regulation and Integration of Multiple Systems (Rowell, L. B. & Shepherd, J. T., eds.), American Physiological Society, Bethesda, MD, 1996; 22, 995–1035.

(38) PAXTON, R., HARRIS R. “Regulation of branched-chain a-ketoacid dehydrogenase kinase”. *Arch Biochem Biophys.* 1984; 231:48–57.

(39) SHIMOMURA, Y., OBAYASHI, M., MURAKAMI, T., et al. “Regulation of branched-chain amino acid catabolism: nutritional and hormonal regulation of activity and expression of the branched-chain a-keto acid dehydrogenase kinase”. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2001; 4:419–23.

(40) SHIMOMURA, Y., YAMAMOTO ,Y., BAJOTTO G., et al. “Nutraceutical effects of branched-chain amino acids on skeletal muscle”. *J Nutr* 2006; 136(2):529S-532S.

(41) SHIMOMURA, Y., NANAUMI, N, at all. “Purification and partial characterization of branched-chain a-ketoacid dehydrogenase kinase from rat liver and rat heart”. *Arch Biochem Biophys.* 1990; 283:293–9.

(42) POPOV, KM., ZHAO, Y., SHIMOMUR, Y., et al. “Branched-chain a-ketoacid dehydrogenase kinase: molecular cloning, expression, and sequence similarity with histidine protein kinases”. *J Biol Chem.* 1992; 267:13127–30.

(43) DAMUNI, Z., REED, L. “Purification and properties of the catalytic subunit of the branched-chain a-keto acid dehydrogenase phosphatase from bovine kidney mitochondria”. *J Biol Chem.* 1987;262:5129–32.

(44) SHIMOMURA, Y., FUJII, H., SUZUKI, M., et al, “Branched-chain 2-oxo acid dehydrogenase complex activation by titanic contractions in rat skeletal muscle”. *Biochim. Biophys.* 1993; *Acta* 1157: 290–296.

(45) BROSINAN , J., BROSINAN, M. “Branched Chain amino acids: enzyme and substrate regulation”. *J. Nutr.* 2006; 136, 207S-211S.

(46) HARRIS, R., JOSHI, M., JEOUNG, N., et al. “Overview of the molecular and biochemical basis of branched-chain amino acid catabolism”. *J Nutr* 135(6 Suppl): 2005; 1527S-1530S.

(47) NICASTRO, H., DA LUZ, C., CHAVES, D. “Does Branched Chain Amino Acids Supplementation Modulate Skeletal Muscle Remodeling through Inflammation Modulation? Possible Mechanisms of Action”. *J Nutr Metab.* 2012; 136937. doi: 10.1155/2012 /136937.

(48) GOLDBERG, A., CHANG, T. “Regulation and significance of amino acid metabolism in skeletal muscle”. *Fed. Proc.* 1978; 37: 2301–2307.

(49) WAGENMAKERS, A., BROOKES, J., et al. “Exercise-induced activation of the branched-chain 2-oxo acid dehydrogenase in human muscle”. *Eur. J. Appl. Physiol.* 1989; 59: 159–167.

(50) SHIMOMURA, Y., FUJII, H., et al. “Branched-chain a-keto acid dehydrogenase complex in rat skeletal muscle: regulation of the activity and gene expression by nutrition and physical exercise”. *J. Nutr.* 1995; 125: 1762S–1765S.

(51) KOBAYASHI, R., SHIMOMURA, Y., et al. “Hepatic branched-chain a-keto acid dehydrogenase complex in female rats: activation by exercise and starvation”. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* 1999; 45: 303–309.

(52) MCKENZIE, S.; PHILLIPS, S.M.; et al. “Endurance exercise training attenuates leucine oxidation and BCOAD activation during exercise in humans”. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 2000; 278, 4, E580-E587.

(53) PAUL, H., ADIBI, S. “Paradoxical effects of clofibrate on liver and muscle metabolism in rats: induction of myotonia and alteration of fatty acid and glucose oxidation”. *J. Clin. Invest.* 1979; 64: 405–412.

(54) PAUL, H. S. & ADIBI, S. A. “Leucine oxidation and protein turnover in clofibrate-induced muscle protein degradation in rats”. *J. Clin. Invest.* 1980; 65: 1285–1293.

(55) KOBAYASHI, R., MURAKAMI, T., et al. “Clofibric acid stimulates branched-chain amino acid catabolism by three mechanisms”. *Arch. Biochem. Biophys.* 2002; 407: 231–240.

(56) GUALANO, A., BOZZA, T., et al. “Branched-chain amino acids supplementation enhances exercise capacity and lipid oxidation during endurance exercise after muscle glycogen depletion”. *J. Sports Med phys Fitness* 2011; 51:82-8

(57) BOWTELL, J.L, MARWOOD, S. et al. “Tricarboxylic acid cycle intermediate pool size: functional importance for oxidative metabolism in exercising human skeletal muscle”. *Sports Med* 2007; 37:1071-88

(58) CURI, R., LAGRANHA, C. et al. “The Krebs Cycle as limiting factor for fatty acids utilization during aerobic exercise”. *Arq Bras Endocrinol metab* 2003; 47:135-43

(59) GIBALA, M., YOUNG, M., et al “Anaplerosis of The citric acid cycle: Roll in energy Methabolism of Heart and Skeletal Muscle”. *Acta physiol scand* 2000; 168:657-65

(60) SHIMOMURA Y, MURAKAMI, T., et al “Exercise promotes BCAA catabolism: effects of BCAA supplementation on skeletal muscle during exercise” J Nutr 2004; 134: 1583S-87S.

(61) VAN HALL, G., RAAJMAKERS J., et al “Ingestion of Branched chain amino-acids and tryptofan during sustained exercise: failure to affect performance”. Journal of Physiology 1995; 486.3, 789-794

(62) TANG, F. “Influence of branched chain amino-acids supplementation on urinary protaine metabolite concentrations after swimming”. J AM Coll Nutr 2006; 25:188-94

(63) WASSERMAN K., MCILROY M. “Detecting the threshold of anaerobic metabolism in cardiac patients during exercise”. Am J Cardiol 1964; 14:844-852

(64) DE PABLO, E., GATTI R, et al. “Plasma Lactate, GH and GH-bidding protein levels in exercise following BCAA supplementation in athletes” . Amino acids 2001; 20: 1-11

(65) MATSUMOTO, K., KOBAYASHI, T., et al. “Branched Chain Amino Acid supplementation Increases the Lactate Threshold during an Incremental Exercise test in Trained Individuals”. J Nutr Sci Vitaminol, 2009; 55, 52-58

(66) TESCH, P. “Skeletal muscle adaptations consequent to long-term heavy resistance exercise”. Med Sci Sports Exerc. 1988; 20:S132–4.

(67) KIMBALL, S., JEFFERSON, L. “Regulation of protein synthesis by branched chain amino acids”. Curr Opin Clin Nutr Metab Care. 2001; 4:39–43.

(68) LAYMAN, D. “The role of leucine in weight loss diets and glucose homeostasis”. J Nutr. 2003; 133 Suppl: S261–7.

(69) Pain VM. “Initiation of protein synthesis in eukaryotic cells”. Eur J Biochem. 1996; 236:747–71.

- (70) PAUL, G., GAUTSCH, T., et al. “Amino acid and protein metabolism during exercise and recovery”. In: Wolinsky I, editor. Nutrition in exercise and sport. 3rd ed. Boca Raton, FL: CRC Press; 2002; 125–158. 536S SUPPLEMENT
- (71) PAUL, G., ROKUSEK. J., et al. “Oat, wheat or corn cereal ingestion before exercise alters metabolism in humans”. J Nutr. 1996; 126:1372–81.
- (72) GAUTSCH, TA., ANTHONY, J., et al “Availability of eIF4E regulates skeletal muscle protein synthesis during recovery from exercise”. Am J Physiol. 1998; 274:C406–14.
- (73) ANTHONY, J., GAUTSCH-ANTHONY, T., LAYMAN, D. “Leucine supplementation enhances skeletal muscle recovery in rats following exercise”. J Nutr. 1999; 129:1102–6
- (74) PAIN, V. “Initiation of protein synthesis in eukaryotic cells”. Eur J Biochem.1996; 236:747–71.
- (75) ANTHONY, J., ANTHONY, T., et al. “Signaling pathways involved in translational control of protein synthesis in skeletal muscle by leucine”. J Nutr. 2001;131 (Suppl): S856–60.
- (76) MERRICK, W., HERSHEY, J. “The pathway and mechanism of initiation of protein synthesis”. In: Sonnenberg N, Hershey JWB, Mathews MB, editors. Translational control of gene expression. Cold Spring Harbor, NY: Cold Spring Harbor Laboratory Press; 2000; 33–88.
- (77) PTUSHKINA, M., VON DER HAAR, T., et al. “Cooperative modulation by eIF4G of eIF4E-binding to the mRNA” 59 cap in yeast involves a site partially shared by p20. EMBO J. 1998; 17: 4798–808.



- (78). MARTIN DE, HALL MN. “The expanding TOR signaling network”. *Curr Opin Cell Biol.* 2005; 2:158–66.
- (79) NOJIMA, H., TOKUNAGA, C., et al. “The mammalian target of rapamycin (mTOR) partner, raptor, binds the mTOR substrates p70 S6 kinase and 4E-BP1 through their TOR signaling (TOS) motif”. *J Biol Chem.* 2003; 278: 15461–4.
- (80). LONG, X., ORTIZ-VEGA, S., et al. “Rheb binding to mTOR is regulated by amino acid sufficiency”. *J Biol Chem.* 2005; 280:23433–6
- (81) ATHERTON, P., BABRAJ, J., et al. “Selective activation of AMPK-PGC-1 $\alpha$  or PKB-TSC2-mTOR signaling can explain specific adaptive responses to endurance or resistance training-like electrical muscle stimulation”. *FASEB J.* 2005; 19:786–8.
- (82) SMITH, E., FINN, S., et al.. “The tuberous sclerosis protein TSC2 is not required for the regulation of the mammalian target of rapamycin by amino acids and certain cellular stresses”. *J Biol Chem.* 2005; 280:18717–27.
- (83). KEMP, B., MITCHELHILL, K., et al. “Dealing with energy demand: the AMP-activated protein kinase”. *Trends Biochem Sci.* 1999; 24:22–5.
- (84). ANTHONY, J., REITER, A., et al. “Orally administered leucine enhances protein synthesis in skeletal muscle of diabetic rats in the absence of increases in 4E-BP1 or S6K1 phosphorylation”. *Diabetes.* 2002; 51:928–36.
- (85) PROUD, C. “Regulation of mammalian translation factors by nutrients”. *Eur J Biochem.* 2002; 269:5338–49.
- (86) GLASS, D. “Signalling pathways that mediate skeletal muscle hypertrophy and atrophy”. *Nat Cell Biol.* 2003; 5:87–90.

(87) LOUARD, R., BARRETT, E., GELFAND, R. “Effect of infused branched-chain amino acids on muscle and whole-body amino acid metabolism in man”. *Clin Sci (Lond)* 1990; 79: 457–466.

(88) NADER, G., ESSER, K. “Intracellular signaling specificity in skeletal muscle in response to different modes of exercise”. *J Appl Physiol* 90: 2001; 1936–1942.

(89) NAIR, K., SCHWARTZ, R., WELLE, S. “Leucine as a regulator of whole body and skeletal muscle protein metabolism in humans”. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 1992; 263: E928–E934.

(90) ANTHONY, J., YOSHIZAWA, F., et al. “Leucine stimulates translation initiation in skeletal muscle of postabsorptive rats via a rapamycin-sensitive pathway”. *J Nutr.* 2000; 130:2413–9.

(91) BOLSTER, D., VARY, T., KIMBALL, S., JEFFERSON, LS. “Leucine regulates translation initiation in rat skeletal muscle via enhanced eIF4G phosphorylation”. *J Nutr.* 2004; 134:1704–10.

(92) CROZIER, S., KIMBALL, S., et al. “Oral leucine administration stimulates protein synthesis in rat skeletal muscle”. *J Nutr.* 2005; 135:376–82

(93) HAKAN, K., PER-ANDERS, N., et al. “Branched-chain Amino Acids increase p70s6K phosphorylation in human skeletal muscle after resistance exercise”. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2004; 287: E1-E7

(94) PASIAKOS, S., MCCLUNG, H., et al. “Molecular responses to moderate endurance exercise in skeletal muscle”. *Int J Sport Nutr Exerc Metab* 2010; 20:282–90.

(95) BEELEN, M., KOOPMAN, R., GIJSEN, A., et al. “Protein co-ingestion stimulates muscle protein synthesis during resistance type exercise”. *Am J Physiol Endocrinol Metab* (in press), 2008.

(96) PHILLIPS, S. M. “Protein requirements and supplementation in strength sports”. *Nutrition*. 2004; 20:689–95.

(97) CUTHBERTSON, D., BABRA, J., SMITH, K., WILKES, E., et al. “Anabolic signaling and protein synthesis in human skeletal muscle after dynamic shortening or lengthening exercise”. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 290, 2006; E731–E738.

(98) DOHM, G., KASPEREK, G., TAPSCOTT, E., et al. “Effects of exercise on synthesis and degradation of muscle protein”. *Biochem J*. 1980; 188:255–62.

(99) LAYMAN, D. “Role of leucine in protein metabolism during exercise and recovery”. *Can J Appl Physiol*. 2002; 27:646–62.

(100) CERVELLIN, G., COMELL, I., LIPPI, G. “Rhabdomyolysis: historical background, clinical, diagnostic and therapeutic features”. *Clin Chem Lab Med* 2010; 48(6):749-756.

(101) FINK, R, LUTTGAU, H. “An evaluation of the membrane constants and the potassium conductance in metabolically exhausted muscle fibres”. *J Physiol* 1976; 263:215–38.

(102) FINK R, HASE S, LUTTGAU HC, et al. “The effect of cellular energy reserves and internal calcium ions on the potassium conductance in skeletal muscle of the frog”. *J Physiol* 1983; 336:211–28.

(103) PONRAJ, D., GOPALAKRISHNAKONE, P. “Establishment of an animal model for myoglobinuria by use of a myotoxin from *Pseudechis australis* (king brown snake) venom in mice”. *Lab Anim Sci* 1996; 46:393–8.

(104) NAKADA, K., NAKADA, F., ITO, E., et al. “Quantification of myonecrosis and comparison of necrotic activity of snake venoms by determination of creatine phosphokinase activity in mice sera”. *Toxicon* 1984; 22:921–30.

(105) LOPES, F., NUNEZ, J., RUCAVADO, A., et al. “Skeletal muscle necrosis and regeneration after injection of *Thalassophryne nattereri* (niquim) fish venom in mice”. *Int J Pathol* 2001; 82:55–64.

(106) PEDERSEN, B., BRUUNSGAARD, H. “How physical exercise influences the establishment of infections”. 1995; *Sports Med.* 19: 393–400.

(107) BASSIT, R., SAWADA, L., BACURAU, R., et al. “Branched-chain amino acid supplementation and the immune response of long-distance athletes”. *Nutrition* 2002; 18: 376–379.

(108) Rohde, T., MacLean, D., Pedersen, B. “Effect of glutamine supplementation on changes in the immune system induced by repeated exercise”. *Med. Sci. Sports Exerc.* 1998; 30: 856–862.

(109) KRZYWKOWSKI, K., PETERSEN, E. W., OSTROWSKI, K., et al. “Effect of glutamine supplementation on exercise-induced changes in lymphocyte function”. *Am. J. Physiol.* 2001; 281: C1259–C1265.

(110) REINALDO, A., LETÍCIA A., et al, “Branched-Chain Amino Acid Supplementation and the Immune Response of Long-Distance Athletes”. *Nutrition* 2002; 18:376 –379

(111) HOWATSON, G., VAN SOMEREN, K. “The prevention and treatment of exercise-induced muscle damage”. *Sports Med* 2008; 38:483–503.

(112) HOWATSON, G., HOAD, M., et al “Exercise-induced muscle damage is reduced in resistance-trained males by branched chain amino acids: a randomized, double-blind, placebo controlled study”: *Journal of the International Society of Sports Nutrition* 2012, 9:20

(113) KNECHTLE, B., MRAZEK, C. “Branched-chain amino acid supplementation during a 100-km ultra-marathon--a randomized controlled trial”. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)*. 2012; 58(1):36-44.

(114) COOMBES, J., MCNAUGHTON, L. “Effects of branched-chain amino acid supplementation on serum creatine kinase and lactate dehydrogenase after prolonged exercise”. *J Sports Med Phys Fitness*. 2000; 40(3):240-6.

(115) MATSUMOTO, K., KOKA, T. “Branched-chain amino acid supplementation attenuates muscle soreness, muscle damage and inflammation during an intensive training program”. *J Sports Med Phys Fitness*. 2009; 49(4):424-31.

(116) ADAMS, G., CHENG, D., et al. “Skeletal muscle hypertrophy in response to isometric, lengthening, and shortening training bouts of equivalent duration”. *J Appl Physiol* 2004, 96:1613–1618.

(117) HIGBIE, E., CURETON, K., et al. “Effects of concentric and eccentric training on muscle strength, cross-sectional area, and neural activation”. *J Appl Physiol* 1996, 81:2173–2181.

(118) HORTOBAGYI, T., HILL, J., HOUMARD JA, et al, “Adaptive responses to muscle lengthening and shortening in humans”. *J Appl Physiol* 1996, 80:765–772

(119) NOSAKA, K., NEWTON, M., SACCO, P. “Muscle damage and soreness after exercise of the elbow flexors”. *Med Sci Sports Exerc*. 2002; 34:920–7.

(120) LEAHY, D., PINTAURO, S., “Branched-chain amino Acid plus glucose supplement reduces exercise-induced delayed onset muscle soreness in college-age females”. *ISRN Nutr*, 2013 Mar 17;2013:921972. doi: 10.5402/2013/921972. eCollection 2013.

(121) DAVIS, J., BAILEY, S. “Possible mechanisms of central nervous system fatigue during exercise”. *Med. Sci. Sports Exerc*. 1997; 29(1):45-57.

(122) NEWSHOLME, E., ACWORTH, L., BLOMSTRAND, E., “Amino acids, brain neurotransmitters and a function link between muscle and brain that is important in sustained exercise”. S46 Meeusen and Watson In: *Advances in Myochemistry*, G. Benzi (Ed.) London: John Libbey Eurotext, 1987; 127-133.

(123) FEMSTROM, J. “Branched-chain amino acids and brain function”. *J. Nutr.* 2005; 135: 1539S-1546S.

(124) GOMEZ-MERINO, D., BEQUET, M., BERTHELOT, S., et al. “Evidence that the branched-chain amino acid L-valine prevents exercise-induced release of 5-HT in rat hippocampus”. *Int. J. Sports Med.* 2001; 22(5):317-322.

(125) VAN ZWIETEN, P., CHALMERS, J. “Different types of centrally acting antihypertensives and their targets in the central nervous system”. *Cardiovasc. Drugs Ther.* 1994; 8: 787–799.

(126) FREED, C., YAMAMOTO, B. “Regional brain dopamine metabolism: a marker for the speed, direction, and posture of moving animals”. *Science* 1985. 229(4708):62-65.

(127) GERALD, M. “Effects of (+)-amphetamine on the treadmill endurance performance of rats”. *Neuropharmacology.* 1978, 17(9):703-704.

(128) HASSMEN, P., BLOMSTRAND, E., EKBLUM, B., et al. “Branched-chain amino acid supplementation during 30-km competitive run: mood and cognitive performance”. *Nutrition.* 1994; 10(5):405-410.

(129) DAVIS, J., WELSH, R., DE VOLVE, K., et al. “Effects of branched-chain amino acids and carbohydrate on fatigue during intermittent, high-intensity running”. *Int. J. Sports Med.* 1999; 20(5):309-314.

(130) MITTLEMAN, K., RICCI, M., BAILEY, S., “Branched-chain amino acids prolong exercise during heat stress in men and women”. *Med. Sci. Sports Exerc.* 1998; 30(1):83-91.

(131) PORTIER, H., CHATARD “Effects of branched-chain amino acids supplementation on physiological and psychological performance during an offshore sailing race”. *J. Eur J Appl Physiol.* Nov;104(5):787-94. doi: 10.1007/s00421-008-0832-5. Epub 2008 Aug 13.