

Nathan Gobbi de Oliveira

Efeito da suplementação de diferentes tipos de carboidratos
durante o exercício físico e nas respostas metabólicas

Dissertação apresentada à
Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo para
a obtenção do título de Mestre
em Ciências.

Programa: Ciências do
Sistema Musculoesquelético

Orientador: Dr. Bryan Saunders

(Versão Corrigida. Resolução CoPGr n° 6018, de 13 de outubro de 2011. A versão original está disponível na Biblioteca FMUSP)

São Paulo
2022

Nathan Gobbi de Oliveira

Efeito da suplementação de diferentes tipos de carboidratos
durante o exercício físico e nas respostas metabólicas

Dissertação apresentada à
Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo para
a obtenção do título de Mestre
em Ciências.

Programa: Ciências do
Sistema Musculoesquelético

Orientador: Dr. Bryan Saunders

(Versão Corrigida. Resolução CoPGr n° 6018, de 13 de outubro de 2011. A versão original está disponível na Biblioteca FMUSP)

São Paulo
2022

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Oliveira, Nathan Gobbi de
Efeito da suplementação de diferentes tipos de
carboidratos durante o exercício físico e nas
respostas metabólicas / Nathan Gobbi de Oliveira. --
São Paulo, 2022.
Dissertação (mestrado)--Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo.
Programa de Ciências do Sistema
Musculoesquelético.
Orientador: Bryan Saunders.

Descritores: 1.Carboidrato 2.Contrarrelógio
3.Exercício físico 4.Glicose 5.Glicogênio 6.Ciclista
USP/FM/DBD-375/22

Responsável: Erinalva da Conceição Batista, CRB-8 6755

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Autor: Nathan Gobbi de Oliveira

Título: Efeito da suplementação de diferentes tipos de carboidratos durante o exercício físico e nas respostas metabólicas

Dissertação apresentada
à Faculdade de Medicina
da Universidade de São
Paulo para a obtenção do
título de Mestre em
Ciências

Data: ___/___/___

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr.: _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr.: _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr.: _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

DEDICATÓRIA

Primeiramente gostaria de agradecer ao apoio dos meus pais, **Mirian** e **Jair** que só com a ajuda deles eu pude chegar onde cheguei, pode não ser muita coisa mais sem a ajuda deles, apoio, tanto moral quanto financeiro me resguardaram para chegar até aqui. Agradecer também a meus companheiros de laboratório que muitas das vezes compartilhamos bons momentos que ficam pra vida toda, pessoas essas que além de colegas de laboratório se tornam amigos confidentes.

Essa trajetória de Pós-graduando me fez repensar muitas coisas, me fez sempre exigiro melhor de mim, superar limites, superar dificuldades que antes jamais pensei em enfrenta-las, poucas pessoas saem da zona de conforto para evoluírem e hoje olhando para trás posso dizer que eu consegui sair da minha zona de conforto para chegar até aqui. Claro não poderia deixar de agradecer meu orientador Bryan Saunders, o orientador é a base pra todo conhecimento que podemos adquirir em uma trajetória como essa. Até me arrisco a dizer que um orientador pode ser comparado ao um parente próximo, que tem a função de te direcionar, dar conselhos, puxar sua orelha de vez em quando, mas sabemos que sempre pra o bem de nós alunos.

Com isso agradeço a todos que fizeram parte até esse momento em minha vida!

RESUMO

Oliveira NG. Efeito da suplementação de diferentes tipos de carboidratos durante o exercício físico e nas respostas metabólicas [dissertação]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2022.

Atualmente é consenso na literatura que a suplementação de carboidrato (CHO) durante o exercício físico é capaz de melhorar o desempenho, questões metodológicas como, quantidade, concentração e tipo de CHO ingerido podem afetar sua resposta. A suplementação de carboidratos com diferentes índices glicêmicos (IG) (Konig, et al. 2016) durante o exercício *endurance* é pouco estudada. Foi sugerido que CHO de baixo IG, como a trealose, levarão a maiores benefícios de desempenho do que CHO de alto IG, como a maltodextrina. Com isso, este estudo teve como objetivo investigar os possíveis efeitos ergogênicos da suplementação de trealose ao longo do exercício em ciclistas treinados. Para tal foram recrutados treze ciclistas do sexo masculino, “recreativamente treinados” ($\dot{V}O_{2max}$ $56,9 \pm 10,0$ ml·kg⁻¹·min⁻¹, idade 37 ± 6 anos, altura $1,78 \pm 0,04$ m, experiência em ciclismo 8 ± 6 anos) para um estudo crossover, contrabalanceado, duplo-cego e controlado por placebo. Foram realizadas sete visitas ao laboratório, uma para o teste $\dot{V}O_{2max}$, duas para familiarização com protocolo de teste em um ciclo ergômetro (100 minutos de exercício contínuo seguido por 20 minutos de prova contrarrelógio) e quatro visitas com as coletas de dados (coletas sanguíneas a cada 20 minutos e biópsias musculares antes e imediatamente e após) nas seguintes condições: (a) placebo, (b) maltodextrina (10% CHO), (c) isomaltulose (5% CHO) e (d) trealose (5% CHO). Resultados: houve diferença no contrarrelógio de 20 minutos, no trabalho total (kJ), entre as bebidas trealose ($302,3 \pm 39,6$ kJ) e controle ($287,1 \pm 48,8$ kJ; $p=0,02$) e na média de potência (W), entre as bebidas trealose ($251,92 \pm 32,99$ W) e controle ($241,0 \pm 39,6$ W; $p=0,034$), mas nenhuma outra diferença entre as sessões (todas $p \geq 0,13$). **Conclusão:** A suplementação de trealose ao longo do exercício de resistência melhorou o desempenho no ciclismo e parece ser uma fonte de carboidratos apropriada para tarefas de exercício de até 2 h.

Descritores: Carboidrato. Contrarrelógio. Exercício físico. Glicose. Glicogênio. Ciclista.

ABSTRACT

Oliveira NG. Effects of different types of carbohydrates during exercise on performance and metabolic responses [dissertação]. São Paulo: “Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo”; 2022.

There is currently a consensus in the literature that carbohydrate (CHO) supplementation during exercise can improve performance, nonetheless, methodological factors such as the amount, concentration and type of CHO ingested can affect this response. Carbohydrate supplementation with different glycemic indices during endurance exercise is poorly studied. It has been suggested that low GI CHOs, such as trehalose, will lead to greater performance benefits than high GI CHO such as maltodextrin. Therefore, this study aimed to investigate the possible ergogenic effects of trehalose supplementation during endurance exercise in trained cyclists. Thirteen recreationally trained male cyclists ($\dot{V}O_{2max}$ 56.9 ± 10.0 ml·kg⁻¹·min⁻¹, age 37 ± 6 y, height 1.78 ± 0.04 m, cycling experience 8 ± 6 y) were recruited to this double-blind, cross-over, counterbalanced, placebo-controlled study. Seven visits to the laboratory were required, one for the determination of $\dot{V}O_{2max}$ test and a familiarization to the test protocol on a cycle ergometer (100 min of continuous exercise followed by a 20 min time-trial), another familiarization, and four main visits with blood collections every 20 min and muscle biopsies before and immediately after exercise under the following supplementation conditions: (a) placebo, (b) maltodextrin (10% CHO), (c) isomaltulose (5% CHO) and (d) trehalose (5% CHO). Results: Trehalose improved total work done (302.3 ± 39.6 vs. 287.1 ± 48.8 kJ; $p=0.02$) and mean power output (251.9 ± 33.0 vs. 241.0 ± 39.6 W; $p=0.03$) in the 20-min time trial compared to control session, with no other performance differences between the sessions (all $p \geq 0.13$). **Conclusion:** Trehalose supplementation throughout endurance exercise improved cycling performance and appears to be an appropriate carbohydrate source for exercise tasks of up to 2 h.

Descriptors: Carbohydrate. Time trial. Physical exercise. Glucose. Glycogen. Cyclist.

SUMÁRIO

Banca Examinadora.....	4
DEDICATÓRIA.....	5
RESUMO	6
ABSTRACT	7
1. INTRODUÇÃO.....	12
2. REVISÃO DA LITERATURA.....	13
2.1. Fadiga no exercício endurance	13
2.2. História por trás do carboidrato.	14
2.3. Carboidrato e sistema nervoso central.....	16
2.4. Carboidratos e contribuição direta no fornecimento de energia.....	16
2.5. Recomendações de carboidratos.....	17
2.6. Tipos de Carboidratos.....	18
2.7. Suplementação do carboidrato no exercício endurance.....	20
2.8. Suplementação de trealose.....	21
3. OBJETIVOS.....	24
3.1. Objetivo geral.	24
3.2. Objetivos específicos.	24
4. Métodos	24
4.1. Participantes e seleção de amostra.....	24

4.2. Desenho experimental.	25
4.3. Teste incremental.....	26
4.4. Simulação de prova de ciclismo.	26
4.5. Protocolo de Suplementação.....	27
4.6. Recordatórios alimentares.	28
4.7. Análises Sanguíneas.	28
4.8. Biópsia muscular por agulha de sucção.....	29
4.9. Análise de glicogênio muscular.....	30
5. Analises estatísticas	30
6. Resultados.....	32
6.1. Resultados teste de palatabilidade	32
5.2 Resultados de desempenho	33
5.3 Resultados sanguíneos	34
5.4 Resultado recordatório alimentar.....	37
7. Discussão	38
8. Descrição de atividades até o momento.	41
8.1. Artigos publicados/aceitos para publicação.....	41
8.2. Artigos em preparação.....	42
8.3. Resumos publicados em anais de congressos.	42
8.4. Trabalhos apresentados.....	42

8.5. Palestras.	42
9. REFERÊNCIAS.	43
10. Apêndices (anexos).	48

SUMÁRIO DE FIGURAS

*Tabela 1. Dados obtidos durante as sessões, separados pelas sessões, durante o contrarrelógio de 20 min. DP, desvio padrão; Lac, lactato; FCM, frequência cardíaca média, n = 13. *P=0.03 do controle.*

.....
33

Tabela 2. Dados obtidos a partir do recordatório de 24 h, demonstrados por média e desvio padrão

.....
37

Tabela 3. Dados obtidos a partir do recordatório da última refeição que antecedia o teste, demonstrados por média e desvio padrão

.....
37

Figura 1. Desenho das sessões principais do projeto

.....
26

Figura 2. Número de votos (bom, neutro e ruim), recebidos por cada suplemento, classificados por: aceitabilidade; aparência; cheiro; gosto; doçura e textura

.....
32

*Figura 3. Dados do trabalho total (kJ) em cada sessão, durante os 20 minutos de contra relógio, n = 13. *P=0.02 do controle.*

.....
33

Figura 4. Glicose sanguínea durante as sessões (controle; palatinose; malto; trealose) de simulação de ciclismo. DP, desvio padrão

.....
34

Figura 5. Dados da glicemia sanguínea (mg/dL), pré e pós o contrarrelógio de 20 min em cada sessão, n = 13.

**P≤0.03 do controle.*

.....
35

Figura 6. Dados de lactato sanguíneo (mmol/L) pré e pós o contrarrelógio de 20 min em cada sessão, n = 13.

**P≤0.02 do controle.*

.....
36

*Figura 7. Dados de glicogênio muscular (mmol/kg-1 dm) pré e pós cada uma das sessões. *P≤0.0001 do pré. 36*

1. INTRODUÇÃO

Atualmente está claro na literatura que os carboidratos são substratos fundamentais para o desempenho no exercício físico. Situações de exercício de alta intensidade $> 70\% \dot{V}O_{2max}$, tem como principal substrato energético proveniente da oxidação de carboidratos (Achten and Jeukendrup 2003). O consumo de 30 a 60 g/h de carboidrato ao longo do exercício é capaz de melhorar o desempenho físico em atividades de média e longa duração (> 60 minutos)(Thomas, D. T; et al. 2016). Esse efeito é devido a capacidade de manutenção da glicemia sanguínea, consequentemente evitando a hipoglicemia e também o aumento da oxidação endógena de carboidratos, dessa forma poupando glicogênio muscular (Febbraio and Stewart 1996; Foster, et al. 1979; Jeukendrup 2004) e o conteúdo de glicogênio do músculo operante está associado a capacidade do exercício (Bergstrom, et al. 1967).

Na maioria dos estudos, são empregados carboidratos de alto índice glicêmico (IG) (Konig, et al. 2016), como glicose ou maltodextrina que resultam em rápido aumento da glicemia sanguínea. Contudo, tem-se especulado que carboidratos (ou refeições) de baixo IG, poderiam resultar numa melhora de desempenho superior à observada com os de alto IG, uma vez que os primeiros seriam capazes de elevar a oxidação de ácidos graxos em detrimento da glicose, poupando, assim, glicogênio muscular (Konig, et al. 2016; Oosthuyse, et al. 2015). Corroborando essa possibilidade, um estudo demonstrou que a suplementação de isomaltulose (Palatinose®) – um dissacarídeo de baixo IG que sofre lenta hidrólise na banda α -1,6-glicosídica, realizada pela enzima sacarose isomaltase, situada no intestino curto, promoveu um perfil mais estável de glicemia ao longo do exercício com duração de aproximadamente 90 minutos e melhorou o desempenho físico dos ciclistas, em comparação ao consumo de maltodextrina (Konig, et al. 2016). Os autores atribuíram a melhora de desempenho ao possível efeito da isomaltulose à maior conservação do glicogênio muscular; contudo, como o glicogênio não foi mensurado nesse estudo, a hipótese dos pesquisadores requer confirmação.

Outro dissacarídeo que poderia exercer efeito ergogênico é a trealose, formado por uma ligação α , α -1,1-glicosídeo entre duas unidades de α -glicose. Além de atuar, em tese, pelos mesmos mecanismos atribuídos à isomaltulose, ou seja, via preservação de glicogênio muscular.

Devido pouco conhecimento referente a suplementação de trealose em atletas, este estudo tem como objetivo investigar os possíveis efeitos ergogênicos da suplementação ao longo do exercício em ciclistas treinados. Como controles, teremos (adoçante), maltodextrina (carboidrato de alto IG) e a isomaltulose (carboidrato de baixo IG), sendo os dois últimos

considerados controles positivos. Nossa hipótese é que a suplementação de trealose terá efeitos equivalentes ou superiores à suplementação de maltodextrina e isomaltulose, sendo os três carboidratos mais eficazes em melhorar o desempenho do que o placebo. Os achados desse estudo deverão ampliar o conhecimento acerca da capacidade ergogênica de diferentes carboidratos, gerando conhecimento aplicado ao campo da Nutrição Esportiva.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. Fadiga no exercício endurance

O termo “fadiga muscular” pode ser utilizado para definir sensações de cansaço e redução da força voluntária induzida pelo exercício (Brooks 2001; Lepers, et al. 2002). Dessa forma a fadiga no ciclismo está relacionada com a incapacidade dos músculos em manter uma potência necessária ou esperada, sendo que essa redução de força voluntária induzida pelo exercício é um fator importante que afeta negativamente o desempenho (Faria, et al. 2005).

Abbiss and Laursen (2005) apresentou vários modelos para explicar o processo de fadiga, incluindo o modelo de fornecimento de energia. Esse modelo explica que, a fadiga é a consequência do fornecimento insuficiente de adenosina trifosfato (ATP) para os músculos por meio das várias vias metabólicas (fosforilação da fosfocreatina, glicólise, lipólise) (Green 1997; Noakes 2000; Shulman and Rothman 2001).

O ATP, é molécula responsável pela liberação de energia nos seres vivos, é constituído por um açúcar (ribose), uma base nitrogenada (adenina) e três grupos fosfato. Quando esse fosfato é liberado temos a energia necessária pra reações celulares que podem desencadear a contração muscular. A demanda metabólica do ciclismo prolongado causa gasto calórico extremo, exigindo contribuições significativas do metabolismo de carboidratos e lipídios (Jeukendrup, et al. 2000; Mena, et al. 1991). Para isso, nosso metabolismo por sua vez dispõe de vias metabólicas que estão envolvidas na produção, no armazenamento e na utilização dos substratos capazes de gerar ATP, atendendo à demanda energética do exercício físico.

Dentre estas vias temos a via da glicólise, esta via se refere a uma sequência de eventos que degradam a glicose, transformando-a em duas moléculas de piruvato ou ácido pirúvico e liberando energia (ATP). Essa transformação da glicose não depende de oxigênio e a demanda energética define o fim do piruvato. Em baixas e médias intensidades o piruvato é transportado para dentro das mitocôndrias, organelas responsáveis ao fornecimento de energia, nelas, compostos resultantes da degradação da glicose são transformados em ATP, é importante ressaltar que o fornecimento de piruvato não depende exclusivamente da quebra da glicose. O

carboidrato, é substituído frequentemente por ácidos graxos, que são produtos da quebra de lipídios, que chamamos de lipólise. Entretanto em altas intensidades, a elevada degradação de glicose faz com que ocorra uma produção maior de piruvato do que o transporte do mesmo para dentro das mitocôndrias com isso o piruvato resultante da quebra da glicose é convertido a lactato. Com isso em exercícios de alta intensidade acima de 60 a 70% do $\dot{V} O_{2max}$, o fornecimento de energia em forma de ATP é preferencialmente proveniente dos carboidratos (Romijn, et al. 1993; van Loon, et al. 2001), se tornando assim o substrato predominante em exercícios de alta intensidade ($> 70\% \dot{V} O_{2max}$).

O modelo de esgotamento de energia de Abbiss and Laursen (2005) está relacionado ao esgotamento do substrato de combustível, para o fornecimento de ATP, que são provenientes do glicogênio muscular, hepático e glicose no sangue. (Coyle and Montain 1992; Lucia, et al. 2001). Esse modelo é apoiado por estudos que mensuram a glicose sanguínea e glicogênio muscular no ponto de exaustão após corridas de maratona e de ciclismo de endurance prolongado, respectivamente, mostrando uma queda acentuada da glicemia sanguínea e depleção do glicogênio (Bergstrom, et al. 1967; Levine, et al. 1924). Desse modo temos um exemplo de modelo linear de fadiga, em que quanto mais se exercita, mais glicogênio e ATP se esgotam. Com isso o esgotamento do estoque de glicogênio muscular, principalmente, implica na fadiga durante o ciclismo de endurance prolongado, sendo necessária a ingestão de carboidratos para a reposição do mesmo.

2.2. História por trás do carboidrato

A ideia da ingestão de carboidratos durante a prática de exercícios vem sendo construída há mais de um século. Estudos como de Krogh and Lindhard (1920) foram um dos primeiros a mostrarem fortes evidências que a ingestão de carboidratos estava correlacionada com desempenho. Entretanto essa conclusão do autor foi feita a partir de uma observação, onde indivíduos de seu estudo que ingeriam uma dieta rica em carboidratos, se exercitavam com mais facilidade que indivíduos que ingeriam dietas ricas em gordura. Sendo assim, surgiu a necessidade de explicar esse fenômeno.

Historicamente podemos citar alguns trabalhos marcantes que procuravam essas respostas, como de Levine, et al. (1924), que analisou alguns marcadores sanguíneos de onze maratonistas da corrida de Boston, dentre os marcadores estava a glicose. Em sua observação, grande maioria dos atletas acabaram a maratona com baixa concentração de glicose no sangue, desse modo sugerindo um alto consumo de glicose durante a maratona.

No ano seguinte 1925, novamente na maratona de Boston, o autor Gordon, et al. (1925), em parceria com o autor Levine, et al. (1924)I, decidiram novamente estudar alguns marcadores sanguíneos. Entretanto desta vez os pesquisadores decidiram fazer com que os voluntários ingerissem uma grande quantidade de alimentos ricos em carboidratos um dia antes da maratona e também forneceram alguns doces para os voluntários ingerirem durante a prova. Como resultado, os indivíduos ao final da maratona apresentaram a glicemia estável e boas condições físicas, diferente do ano anterior, além de completarem a maratona em menor tempo (Gordon, et al. 1925).

Esses achados despertaram o interesse pelo efeito positivo da ingestão de carboidratos nos exercícios, além de evitar a queda da glicemia durante a maratona de Boston observada pelo autor Gordon, et al. (1925). A ingestão de alimentos ricos em carboidratos na dieta, também era capaz de melhorar a capacidade do indivíduo se exercitar, como descrito por Krogh and Lindhard (1920). Até este momento não tínhamos evidências que poderiam explicar esse efeito, até que em 1967, Bergstrom, et al. (1967), publicou um trabalho inovador com a técnica de biópsia muscular. Seu trabalho nos ajudou a explicar o fenômeno que foi observado anos antes por Krogh and Lindhard (1920).

Bergstrom, et al. (1967), comparou o efeito de uma dieta rica em carboidratos com uma dieta rica em gorduras, no tempo até a exaustão e a concentração de glicogênio pré e pós um teste de ciclismo. Em seus achados, o autor destacou que a dieta rica em carboidratos levou a um aumento de glicogênio muscular antes do teste, que possibilitou uma maior reserva de energia de carboidrato. Desse modo, possibilitando os voluntários a se exercitarem por mais tempo, diferente dos efeitos da dieta rica em gorduras. Os achados vão de acordo com trabalho de Krogh and Lindhard (1920), que também viram efeitos positivos da dieta rica em carboidratos no desempenho, entretanto não tinham ainda o conhecimento da técnica de biópsia muscular.

A partir desses trabalhos e muitos outros, é bem aceito que a ingestão de carboidratos durante o exercício pode melhorar o desempenho a partir de dois mecanismos principais, (i) estímulo do sistema nervoso central (SNC) pela exposição oral de carboidratos, (ii) contribuição direta do carboidrato com o fornecimento de energia (Jeukendrup 2010).

2.3. Carboidrato e sistema nervoso central

Jeukendrup, et al. (1997), mostrou efeitos positivos da ingestão de carboidratos durante um contrarrelógio de 40km (aproximadamente 1h) em ciclistas treinados. Entretanto, historicamente foi hipotetizado que, exercícios de endurance com duração inferior a uma hora, não pode ser beneficiado da suplementação de carboidratos exógenos, devido os mesmos não serem limitados pelos estoques de glicogênio.

Esse efeito positivo da suplementação de carboidrato em exercícios que teoricamente não são limitados pelo modelo de esgotamento de energia, pode ser explicado pela resposta do sistema nervoso central (SNC), à exposição oral de carboidrato. Chambers, et al. (2009), investigou o efeito do enxague bucal com soluções contendo carboidratos (glicose) e placebo (sacarina) no desempenho e possíveis respostas cerebrais a essas substâncias por meio da ressonância magnética. Os achados do autor nos revelaram que o desempenho no teste realizado pelos voluntários, foi melhor quando realizado o enxague bucal com carboidratos e a ressonância revelou que regiões relacionadas à recompensa, incluindo o córtex cingulado anterior e o corpo estriado eram ativados quando existia a exposição oral ao carboidrato, que não ocorria com a sacarina. Esses achados fortalecem a ideia que receptores orais quando estimulados pela presença do carboidrato, fornece um mecanismo baseado no SNC para melhora de desempenho em exercícios com duração inferior a uma hora.

2.4. Carboidratos e contribuição direta no fornecimento de energia

Como demonstrado por Bergstrom, et al. (1967), uma maior quantidade de glicogênio muscular está estritamente relacionada com o tempo em que o indivíduo consegue se exercitar até exaustão. Em seu trabalho, o tempo até a exaustão dos voluntários sem nenhuma intervenção na dieta foi em média de 114 minutos. Esse dado nos leva a inferir que atividades de alta intensidade (aproximadamente 70% do $\dot{V} O_{2max}$) é limitada pelo esgotamento dos estoques de glicogênio, em atividades de endurance com duração superior a aproximadamente sessenta minutos (Abbiss and Laursen 2005). Esse fenômeno ocorre porque em altas intensidades existe um aumento da captação de glicose plasmática e oxidação do glicogênio muscular para suprir a demanda de energia (Romijn, et al. 1993), desse modo a fadiga ocorre pela hipoglicemia instaurada pelo consumo exacerbado da glicose sanguínea e o esgotamento das reservas de glicogênio.

Entretanto esse efeito claramente pode ser atenuado pelo consumo de carboidratos antes e durante o exercício de alta intensidade de longa duração, uma vez que a suplementação pode

impedir a queda da glicemia, por meio da oxidação do carboidrato exógeno (Coyle, et al. 1986) e também pode reduzir a oxidação do glicogênio muscular (Bergstrom and Hultman 1967).

2.5. Recomendações de carboidratos

A partir dos conhecimentos obtidos através de estudos com a suplementação de carboidratos novas perguntas surgiram, como qual seria a dose a ser suplementada. A princípio a suplementação de carboidrato não parece ser relativa ao peso corporal (Jeukendrup 2010), desse modo, parece que a quantidade de transportadores de carboidrato no trato gástrico intestinal (GLUT4 e SGLT1), determinam a absorção do mesmo.

Com isso surge a necessidade de compreendermos qual a quantidade ideal de carboidratos a ser suplementada. Smith, et al. (2010), procurou investigar o efeito da suplementação de três doses de carboidratos (15, 30 e 60g/h), na performance de um teste contrarrelógio de vinte quilômetros após duas horas de teste de ciclismo. Em seus achados, foi possível observar um efeito dose resposta, onde quanto maior a dose, maior os efeitos benéficos da suplementação. Em 2013, o mesmo autor, Smith, et al. (2013) publicou um trabalho utilizando o mesmo protocolo, entretanto agora ele testou doses maiores de carboidratos. Em seus achados, foi observado uma melhora de desempenho de forma curvilínea de dose-resposta, onde foi obtido melhorias de 1,0%, 2,0%, 3,0%, 4,0% e 4,7% a 9, 19, 31, 48 e 78g de carboidrato por hora, respectivamente. Entretanto, doses acima dessas não beneficiaram ainda mais o desempenho no contrarrelógio. Isso indica um limite na taxa de absorção de carboidratos a nível gastrointestinal, quando a ingestão é maior que 60g por hora, uma vez que doses acima de 48g mostraram uma menor porcentagem de melhora no teste. Além disso, a ingestão de grandes quantidades de carboidrato está relacionada com desconforto gastrointestinal (Pfeiffer, et al. 2012).

Em 2016 o American College of Sports Medicine, publicou diretrizes com foco em estratégias nutricionais para performance atlética. Em suas diretrizes as recomendações de carboidrato foram divididas pelo tempo de duração do evento esportivo. Eventos com duração inferior a 45 minutos não é necessária a suplementação, como já discutido, o desempenho não é prejudicado pelos modelos de fadiga apresentados; Eventos com duração de 45 a 75 min é recomendada o enxague bucal com carboidratos ou a suplementação de pequenas quantidades, que já seriam suficiente para beneficiar o desempenho por meio do SNC; Eventos com duração de 1 a 2.5 horas é recomendada a ingestão de 30 a 60 g/h de carboidrato por hora, evitando assim hipoglicemia e esgotamento das reservas de glicogênio; Eventos com duração superior a 2.5h é recomendada a ingestão de 90 g/h de carboidratos, que utilizam múltiplos transportadores

(Thomas, et al. 2016). Apesar de termos visto no estudo de Smith, et al. (2013), que a ingestão de quantidades superiores a 78 g/h de carboidrato não parece resultar em uma melhora significativa do desempenho. Isso ocorreu devido uma limitação na absorção intestinal do carboidrato (Currell and Jeukendrup 2008).

Para absorção dos carboidratos pelas células do intestino, é necessário a quebra do mesmo em pequenas partes que podem ser classificadas como monossacarídeos. Um carboidrato é composto por diversos monossacarídeos ligados entre si, que são denominados: glicose, galactose e frutose. Esses monossacarídeos são absorvidos a partir de uma proteína transportadora de glicose denominada SGLT1, a mesma por sua vez, presente na borda em escova do intestino, é responsável pelo transporte da glicose e galactose, mas não da frutose (Kellett 2001). Desse modo Jeukendrup (2010), sugeriu que a suplementação de grandes quantidades de carboidratos, compostos por monossacarídeos que compartilham o mesmo transportador intestinal, não são absorvidos em doses superiores a 1 g por min, ou seja, 60 g por hora. Isso ocorre justamente pela saturação das proteínas transportadoras de glicose no intestino, por sua vez existe uma forma de otimizar essa absorção. A frutose, monossacarídeo mais presente nas frutas, utiliza outro transportador na borda em escova do intestino, o GLUT5 (Ferraris and Diamond 1997). Desse modo quando combinamos tipos de carboidratos que são constituídos de diferentes monossacarídeos, por exemplo (glicose + frutose), nos beneficiamos de uma maior absorção a nível intestinal, chegando a taxas de absorção de até 90 g por hora. (Jentjens, et al. 2004).

2.6. Tipos de Carboidratos

Como em toda área da nutrição esportiva, uma vez que um suplemento é reconhecido por seu potencial efeito benéfico em esportes, surgem diversas variações, tipos, composições do suplemento que prometem ter efeitos ainda melhores e com os carboidratos não poderia ser diferente. Os carboidratos em geral, podem ser encontrados com diversas diferenças, além das diferentes formas de administrações temos carboidratos com diferentes velocidades de absorção, que damos o nome de Índice glicêmico (Konig, et al. 2016). Índice glicêmico é o nome dado a um método de classificação de alimentos com base na resposta pós absorção de glicose no sangue. Os alimentos com baixo IG resultam em menor glicemia após o período de absorçãoem comparação com alimentos de alto IG (van Can, et al. 2012).

A grande maioria dos estudo citados aqui, utilizaram carboidratos de alto índice glicêmico como maltodextrina, esse suplemento é composto por diversas moléculas de glicose que se

unem por ligações α -1,4-glicosídicas que são quebradas e absorvidas rapidamente, elevando em maior grau a glicemia sanguínea. Entretanto com surgimento de tipos diferentes de carboidratos, vem sendo estudada a suplementação dos carboidratos com baixo índice glicêmico na melhora da *performance*. Suplementos como Isomaltulose e trealose, são carboidratos que compartilham índices glicêmicos baixos, 32 e 67 respectivamente (Atkinson F.S., 2008; Jentjens, R. L; Jeukendrup A. E. 2003).

Isomaltulose é um carboidrato derivado da cana de açúcar, composto por dois tipos de monossacarídeos, glicose e frutose, que são ligados por uma ligação α -1,6-glicosídica (van Can, et al. 2009a) e a Trealose é um carboidrato composto por duas moléculas de glicose, com uma ligação α -1,1 glicosídeo, é naturalmente presente no mel, pão, cogumelos e bebidas fermentadas (van Can, et al. 2009b).

Atualmente vem sendo discutido a hipótese dos carboidratos de baixo índice glicêmico (isomaltulose e trealose), trazerem mais benefícios ao desempenho do que os carboidratos de alto índice glicêmico. Essa hipótese é derivada de estudos que investigaram a utilização de substrato energético após a ingestão de carboidratos com baixo índice glicêmico (Konig, et al. 2016). Os achados mostram que quando utilizado esses carboidratos, é esperada uma maior utilização da gordura como fonte de energia durante o exercício e conseqüentemente uma menor utilização dos estoques de glicogênio, isso ocorre, pois, a suplementação de carboidratos de baixo índice glicêmico tem uma lenta liberação de glicose na corrente sanguínea e conseqüentemente uma baixa resposta do hormônio insulina, que é o hormônio mais forte na supressão da oxidação de gordura. Porém os carboidratos de alto índice glicêmico, que devido a uma rápida absorção e um conseqüente aumento em maior grau da glicose sanguínea, causam o aumento da resposta do hormônio insulina, que suprime a oxidação da gordura e causa o aumento da utilização dos carboidratos como fonte de energia durante o exercício, sendo assim é esperado um maior consumo de glicogênio muscular. Entretanto nenhum estudo investigou os estoques de glicogênio pré e pós teste de endurance com a suplementação de carboidratos com diferentes índices glicêmicos durante o protocolo de exercício.

2.7. Suplementação do carboidrato no exercício endurance

Visto o que foi discutido até aqui, a fadiga tem causas multifatoriais e não é de se surpreender que a suplementação de carboidrato pode atrasar seu aparecimento. Vimos também que pra cada duração do tempo de prova é recomendada uma quantidade de carboidrato a ser ingerida e também tipos de carboidratos estão disponíveis no comercio prometendo cada vez

respostas mais aprimoradas em seus efeitos.

Uma meta-análise de (2014), teve objetivo de investigar o efeito da suplementação de carboidratos no desempenho de exercícios com diferentes durações. O estudo avaliou 61 artigos que compararam a suplementação de somente carboidrato sem nenhuma outra substância com placebo. Desses 61 artigos, 18 artigos avaliaram o desempenho em atividades com duração de uma a duas horas de exercício, desses 18 artigos, 15 mostraram efeitos positivos da suplementação de carboidrato nos protocolos de exercício (Stellingwerff and Cox 2014). Com isso a eficácia da suplementação de carboidrato comparada ao placebo se mostra fortemente embasada.

Estudos que compararam o desempenho com a suplementação de diferentes tipos de carboidratos em sus protocolos ainda são escassos e inconclusivos. O trabalho de König, et al. (2016), investigou a suplementação de 75 g maltodextrina vs 75 g palatinose 45 min antes de um protocolo de 90 minutos de exercício de resistência a 60% do $\dot{V} O_{2max}$ dos indivíduos, seguido de um teste contrarrelógio com objetivo de concluir uma carga de trabalho de 6,5 kJ/kg. Seus achados mostram que a suplementação de palatinose aumentou a glicemia em menor grau em comparação que a maltodextrina nos 45 min antes do teste de resistência, entretanto durante o teste esse cenário inverteu-se. Obtendo assim, valores de glicose levemente aumentados com a suplementação de palatinose em comparação a maltodextrina. Entretanto não teve efeito estatisticamente significativo no tempo do contrarrelógio, palatinose ($30,05 \pm 4,70$ min) vs maltodextrina ($31,08 \pm 6,27$ min).

Esses achados são inconclusivos, entretanto fortalecem um possível efeito similar dos suplementos de baixo IG em comparação dos de alto IG, que também foram vistos em outros estudos, (DeMarco, et al. 1999; Kirwan, et al. 1998; Thomas, et al. 1991; Wu and Williams 2006), mas não em todos (Febbraio, et al. 2000; Wee, et al. 1999). Porém, os estudos citados aqui compararam o efeito dos diferentes IG dos suplementos ingeridos antes das atividades de resistência e nenhum desses trabalhos testaram o efeito da ingestão de carboidratos de baixo ou alto IG durante o protocolo de exercício.

O trabalho de Achten, et al. (2007) investigou o efeito da palatinose de baixo IG e da sucralose de alto IG nas respostas glicêmicas e nas taxas de oxidação de substrato durante um protocolo de 150 minutos de ciclismo. Diferente dos trabalhos citados anteriormente, no estudo de Achten, et al. (2007), os suplementos foram ingeridos durante o teste em intervalos de 15 minutos. Seu trabalho focou na oxidação dos suplementos durante o teste, então não temos dados de desempenho e nem as concentrações de glicogênio muscular, que seriam interessantes para responder se a suplementação de carboidratos de baixo IG podem desenvolver efeitos

superiores em poupar o glicogênio muscular. Contudo, seus dados de glicemia sanguínea foram de acordo com estudos anteriores que mostraram que a palatinose eleva a glicemia em menor grau quando comparada com suplementos de alto IG, além disso houve uma resposta atenuada do hormônio insulina em comparação com a suplementação da sucralose. A oxidação da palatinose foi menor que a sucralose, mesmo sendo consumidas na mesma taxa 1,1 g por minuto, isso reflete a baixa taxa de digestão e absorção da palatinose em comparação com a sucralose. Como em seu trabalho os suplementos foram enriquecidos com carbono-13, foi possível observar a porcentagem de carboidratos endógenos ou exógenos que estavam sendo utilizados durante o exercício. Os carboidratos exógenos foram oxidados em menor grau quando suplementado a palatinose, entretanto os carboidratos endógenos foram utilizados em maior grau quando suplementado a palatinose em comparação com sucralose, sugerindo assim um não efeito poupador de carboidratos endógenos dos carboidratos de baixo IG, como já sugerido por outros autores (Konig, et al. 2016; Wu and Williams 2006).

Contudo o tema de tipos de carboidratos e desempenho ainda permanecem obscuros e necessitam de mais investigações.

2.8. Suplementação de trealose

Trealose, nosso carboidrato de interesse, é produzida industrialmente por conversão enzimática, pode ser naturalmente encontrada no mel, pão, cogumelos e bebidas fermentadas. A trealose é hidrolisada por uma enzima específica da borda em escova do intestino delgado, a trealase, em duas moléculas de glicose (Dahlqvist 1962; Richards, et al. 2002).

Suas moléculas de glicose, são unidas por uma ligação α -1,1 glicosídeo, que dá á trealose algumas propriedades. A trealose é levemente doce (Higashiyama 2002), com isso podetorna-la uma solução mais palatável. Também foi demonstrado ter uma baixa propriedade cariogênica (Neta, et al. 2000), com isso, o problema potencial de cárie dentária, associado ao consumo de suplemento que contem glicose é evitado.

Jentjens and Jeukendrup (2003), investigou o efeito da suplementação da trealose em comparação com glicose, 45 minutos antes de um protocolo de exercício de resistência submáximo. Os voluntários fizeram a ingestão de 75 g de glicose e trealose e após 45 minutos de repouso iniciaram o protocolo de exercício. Devido ao médio índice glicêmico da trealose (67) em comparação com glicose (100), é esperado que a trealose desenvolva baixa resposta da insulina devido sua lenta absorção e um conseqüente aumento em menor grau da glicemia sanguínea em comparação com a glicose. Seus achados foram de acordo, realmente a trealose

desenvolveu uma resposta glicêmica e insulinêmica menor que a da glicose durante o repouso, 10% e 50% respectivamente, entretanto durante o protocolo de exercício não houve diferença entre os carboidratos. O autor também mediu o desempenho dos indivíduos que passaram por um protocolo de 20 minutos de ciclismo estacionário e um protocolo de desempenho até completar 702 kJ de trabalho em menor tempo possível. Os ensaios com a suplementação de ambos carboidratos não foi estatisticamente significativo, 41:05 ± 1:03 minutos para glicose e 41:57 ± 1:19 min para trealose, entretanto devemos destacar que o protocolo total de exercício teve duração de aproximadamente 60 minutos, que já foi demonstrado que não é limitada pelos estoques de glicogênio muscular (Thomas, et al. 2016), desse modo podendo mascarar efeitos positivos da suplementação no desempenho.

Um estudo de Venables, et al. (2008), também investigou os efeitos da suplementação de trealose e maltodextrina nas respostas fisiológicas durante um protocolo de ciclismo de 150 minutos, entretanto, diferente do estudo anterior, nesse trabalho os voluntários fizeram a ingestão do suplemento durante o protocolo de ciclismo. Os voluntários no início do protocolo faziam a ingestão de 600 ml de trealose ou maltodextrina que continham aproximadamente 51 g de carboidratos e posteriormente ingeriam 150 ml a cada 15 minutos que continha aproximadamente 12,7 g de carboidratos. Os autores investigaram, as respostas de glicose e insulina sanguínea a cada 15 min e também a porcentagem de substrato energético utilizado para realização do exercício. Em seus achados os autores encontraram uma taxa de oxidação da trealose 27% mais baixa que a da maltodextrina, sugerindo uma menor velocidade de absorção. Também foi visto que o aumento da glicose sanguínea e insulina ocorreram em menor grau com trealose em comparação com a maltodextrina e esse efeito levou a um maior uso da oxidação de lipídios como fonte de energia durante o protocolo de exercício. Esses achados também foram vistos no estudo anterior, demonstrando assim que mesmo a suplementação da trealose durante o exercício é possível obter efeitos atenuados sobre aumento da glicose e insulina na corrente sanguínea. Entretanto não sabemos dizer se todos esses efeitos que o uso da mesma, podem ser benéficos ao desempenho e nem seus efeitos no glicogênio muscular.

Além desses potenciais efeitos da trealose nas atividades de endurance, é possível se beneficiar de alguns outros efeitos. A trealose tem efeito citoprotetor em organismos inferiores, (Benaroudj, et al. 2001; Richards, et al. 2002), além disso ela tem características antioxidantes, capaz de reduzir o estresse oxidativo e a inflamação que foram vistas em modelos de roedores em doenças relacionadas a idade. Também é possível observar que a suplementação da trealose em roedores, foi capaz de preservar a função vascular em doenças pro-inflamatórias associadas a idade (Arai, et al. 2001; Echigo, et al. 2012, Sarkar, 2014 #115). Desse modo, a trealose surge

como um suplemento potencialmente eficaz no desempenho e que também pode desenvolver efeitos benéficos a saúde do indivíduo por meio da inibição do estresse oxidativo vascular.

No estudo de Kaplon, et al. (2016), foi demonstrado que a suplementação de 12 semanas de trealose melhorou dilatação endotélio dependente em idosos. A dilatação endotélio dependente é prejudicada com o avanço da idade e este estudo mostrou que a suplementação de 100 g de trealose por dia durante 12 semanas, melhorou esse marcador de função microvascular. Os autores associaram esse efeito devido ao aumento da biodisponibilidade do óxido nítrico, ao ponto que, quando a produção de óxido nítrico foi inibida por co-infusão de L-NMMA, a melhora da dilatação endotélio dependente não pode ser observado, demonstrando assim forte indícios de uma relação da trealose com a produção de óxido nítrico. Entretanto, nitrito e nitrato que são precursores do mesmo, não foi medido neste estudo, necessitando de mais investigações.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

Investigar os possíveis efeitos ergogênicos da suplementação de trealose em ciclistas treinados, durante um teste de ciclismo com diferentes intensidades durante uma hora e 40 minutos mais um contrarrelógio de vinte minutos.

3.2. Objetivos específicos

- Comparar o desempenho do contrarrelógio de 20 minutos, com as seguintes bebidas maltodextrinam, isomaltulose (Palatinose®), trealose e placebo.
- Comparar o comportamento da glicose e lactato sanguíneo durante as duas horas de ciclismo com as três diferentes bebidas.
- Comparar a concentração do glicogênio muscular antes e logo após o término do teste físico entre os diferentes carboidratos testados.

4. MÉTODOS

As condutas experimentais seguiram as recomendações estabelecidas pela declaração de Helsinki (RICKHAM PP 1964). Este estudo foi submetido e aceito pelo comitê de ética da Escola de Educação Física e Esporte da Universidade de São Paulo / EEFPE-USP (CAAE: 92384218.4.0000.5391), onde os testes foram realizados. Além disso, o trabalho teve bolsa de

mestrado da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) número de processo: 2019/07497-4, sob a responsabilidade do aluno Nathan Gobbi de Oliveira.

4.1. Participantes e seleção de amostra

Uma análise de potência *a priori* foi realizada usando G*Power (v. 3.1, University of Düsseldorf, Germany) (Faul, et al. 2007). Assumindo um poder estatístico de 0,8, um nível alfa de 0,05, uma correlação de 0,9 e usando um tamanho de efeito ($d = 0,40$) como uma representação conservadora do efeito intermediário do CHO no exercício com duração de até duas horas (Stellingwerff and Cox 2014), o tamanho total da amostra foi de 12 participantes. No entanto, devido à probabilidade de desistências, aumentamos esse número em 33%, totalizando 16 indivíduos. Para isso, foram recrutados por meio das redes sociais 24 ciclistas do sexo masculino entre 18 e 45 anos e com experiência em ciclismo de, pelo menos, dois anos. Desses 24 ciclistas, sete desistiram do protocolo devido motivos pessoais, três ciclistas não aguentaram o protocolo de testes físicos e um não retornou após primeiro protocolo experimental (Figura 1).

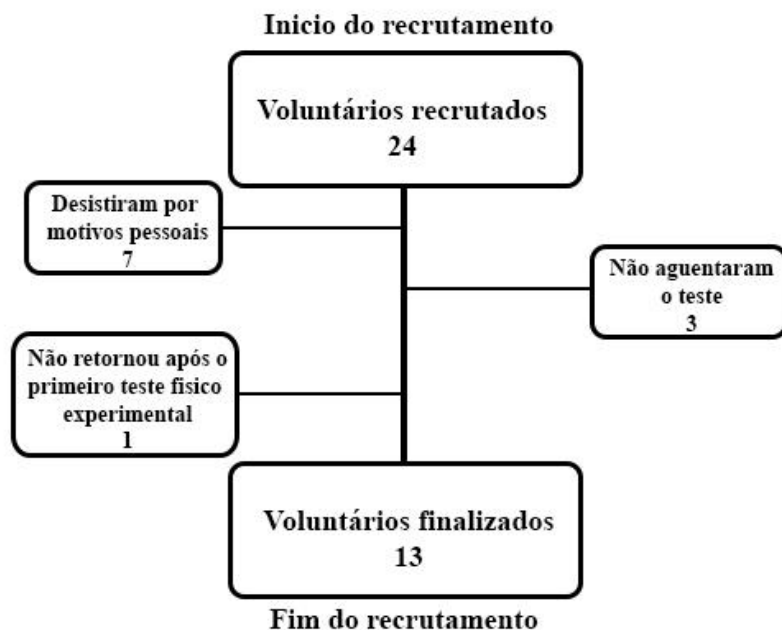


Figura 1. Fluxograma do recrutamento da amostra.

Como critérios de inclusão, os participantes deveriam ter no mínimo um $\dot{V}O_{2max} > 45$ mL/kg/min sendo caracterizados como “recreativamente treinados” segundo (De Pauw, et al. 2013). Além disso, uma carga semanal > 60 km por semana de treino em ciclismo (De Pauw, et al. 2013), não ter suplementado, nos últimos três meses, creatina e beta-alanina, além disso, não fazer uso atual de suplementos que contenham, tamponantes, nitratos ou qualquer outro tipo de nutriente e/ou substância potencialmente ergogênico(a) 24 horas antes dos testes. Não foram incluídos no estudo participantes: tabagistas, portador de alguma doença crônica e com uso atual ou pregresso de esteroides anabolizantes.

Na primeira visita foi realizado o teste incremental para verificar os critérios de elegibilidade ($\dot{V}O_{2max} > 45$ mL/kg/min), caso atendido os requisitos de inclusão, marcávamos a data de início que melhor adequasse a agenda do voluntários para que realizássemos todos os testes no mesmo horário e dia da semana. Na semana seguinte dávamos início aos testes físico experimentais.

Tabela 1. Caracterização dos indivíduos (N = 13). Dados estão expressos em média e desvio padrão (DP).

	Média		DP
Peso (kg)	78,8	±	8,7
Altura (m)	1,78	±	0,04
Idade (anos)	38	±	6
IMC (kg/m ²)	24,60	±	2,22
Percentual de gordura (%)	17,51	±	5,02
Volume semanal (km)	207	±	102
$\dot{V}O_{2max}$ (ml/kg/min)	54,89	±	10,98

4.2. Desenho experimental

O estudo teve um desenho crossover, contrabalanceado, randomizado, duplo-cego e controlado por placebo. Os voluntários realizaram sete visitas ao laboratório com intervalo de uma semana entre as visitas. Após as etapas de recrutamento e seleção da amostra, os voluntários realizaram duas familiarizações do teste físico e então foram enrolados nos quatro testes físicos experimentais.

A ordem dos testes foi determinada aleatoriamente, pela técnica de quadrado latino (<https://hamsterandwheel.com/grids/index2d.php>) (Mason, 2003), além disso foi utilizado um gerador de números online (<https://www.randomizer.org/>), para determinar qual a ordem de

teste que o voluntario a seguir (Tabela 2).

Uma vez determinado a ordem, o pesquisador separava os suplementos por (T1, T2, T3, T4) e conforme a realização dos testes físicos experimentais, as bebidas eram preparadas com um litro de água, um sachê de suco fit, em uma garrafa de um litro, opaca, para que evitasse qualquer possibilidade de encontrar resquícios de suplemento e entregava ao pesquisador que iria realizar o teste físico experimental no dia, de modo que nem o pesquisador que ia acompanhar o teste físico experimental e nem o voluntário soubessem qual bebida estava ingerindo.

Todas as etapas de preparação das bebidas foi realizado por um pesquisador que não participou dos testes físicos experimentais.

Tabela 2. Sequência determinada pelo quadrado latino utilizada no estudo: A = Isomaltulose; B = Placebo; C = Malto; D = Trealose.

	T1	T2	T3	T4
1	A	B	C	D
2	C	A	D	B
3	D	C	B	A
4	B	D	A	C
5	D	A	B	C
6	A	C	D	B
7	B	D	C	A
8	C	B	A	D
9	B	A	C	D
10	A	D	B	C
11	C	B	D	A
12	D	C	A	B
13	A	D	B	C

As familiarizações e testes tiveram duração de 100 minutos de exercício contínuo com intensidades variáveis, seguido por 20 minutos de prova contrarrelógio, totalizando 120 minutos (Figura 2). O desempenho foi avaliado pelo trabalho total realizado (kJ).

Os testes físicos experimentais foram realizados sempre no mesmo período do dia, de acordo com a disponibilidade do voluntário, uma vez determinado com ele o horário que realizaria o primeiro teste físico experimental, os testes seguintes seriam no mesmo horário, com início pelo menos três horas após ingestão da última refeição. Os participantes foram instruídos a absterem-se do consumo de café, ingestão de álcool e da prática de exercícios

extenuantes ou não usuais por, pelo menos, 24 horas antes de cada teste físico experimental. Foi verificado verbalmente antes de cada teste físico experimental se as orientações foram atendidas. Os pesquisadores aplicaram recordatório alimentar de 24 horas (Apêndice 2) e os participantes foram orientados a manterem o mesmo consumo alimentar nas 24 h antes dos próximos testes físicos experimentais.

Nos testes físicos experimentais também foram feitas coletas de sangue a cada 20 minutos e ao final de cada estágio de 2,5W/kg ao longo do exercício para análises de glicose, lactato, nitrato e nitrito (Figura 2). Além disso, biópsias musculares foram realizadas ao início do teste físico e imediatamente após o contrarrelógio, para mensuração de glicogênio muscular.

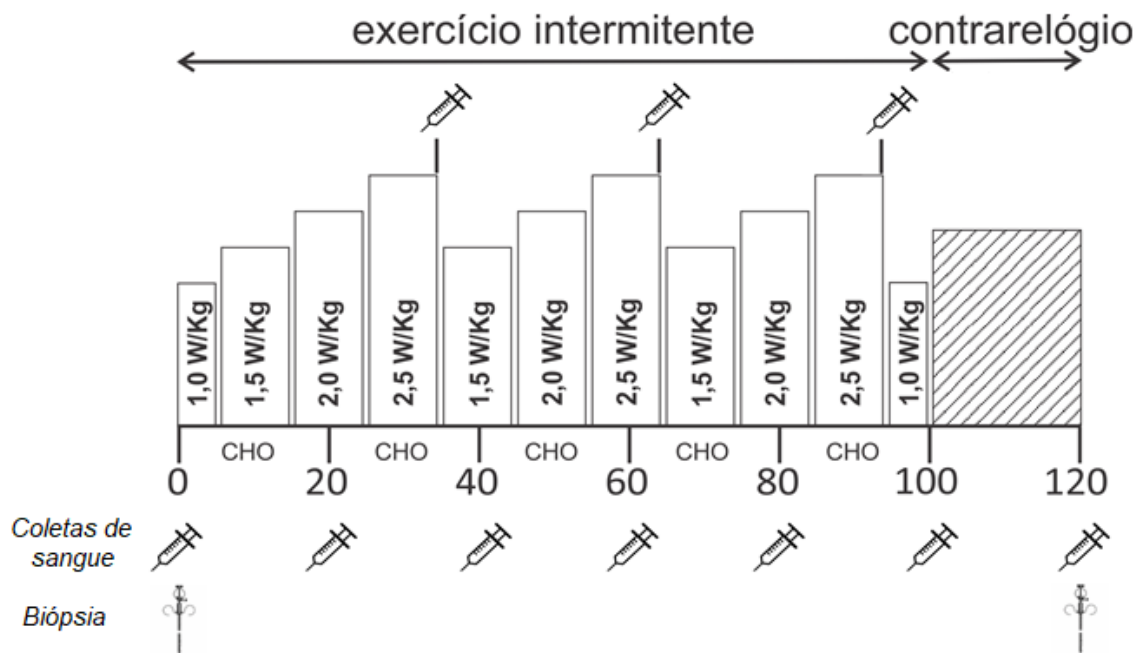


Figura 2. Desenho dos testes físicos principais.

4.3. Teste incremental

O teste incremental foi realizado em um ciclo ergômetro (Excalibur Sport, Lode BV, Holanda). A carga inicial foi definida em 100W, e aumentou 25W a cada estágio de três minutos até que ocorresse a exaustão voluntária do indivíduo, ou até que a cadência ficasse abaixo de 60 rotações por minuto, por mais de 10 segundos, mesmo com encorajamento verbal. A frequência cardíaca foi aferida continuamente (H7, Polar, Finlândia) e a ventilação por minuto, consumo de oxigênio e quociente respiratório foram mensurados durante o exercício utilizando um analisador de gases “*Respiração por Respiração*” (K5, Cosmed, Itália) para determinar o $\dot{V}O_{2max}$, que foi definido pela média do consumo máximo de oxigênio durante 15 segundos.

4.4. Simulação de prova de ciclismo

O teste físico experimental foi realizado em um ciclo ergômetro (Lode, Excalibur, Lode, Holanda) e teve duração de 120 minutos (100 minutos de exercício intermitente, seguido por 20 minutos de prova contrarrelógio). O teste físico experimental iniciou com uma carga de 1,0 W/kg de peso corporal por cinco minutos. Após o período, se inicia o primeiro estágio de 10 minutos com valor de carga de 1,5 W/kg de peso corporal. Após o término do primeiro estágio, inicia-se outro estágio de 10 minutos com a carga de 2,0 W/kg de peso corporal, seguido por outro de 10 minutos com a carga de 2,5 W/kg de peso corporal. Esse ciclo de 30 minutos foi repetido três vezes e ao final do último ciclo foi realizado 5 minutos com carga de 1,0 W/kg de peso corporal, totalizando 100 minutos de ciclismo (Figura 2).

Imediatamente após o protocolo intermitente, os participantes realizaram um teste contrarrelógio de 20 minutos no qual eles deviam pedalar o máximo possível (Lode, Excalibur, Lode, Holanda). É importante salientar que o protocolo foi montado no programa do ciclo ergômetro e os testes ocorreram em seguida, sem pausa, de forma automática pelo programa. Os participantes foram instruídos a se esforçar ao máximo. Foram dadas motivações verbais e informações como cadência e quanto tempo resta (15 minutos, 10 minutos, 5 minutos e 1 minuto para o final) foram disponibilizadas até que o teste físico experimental terminasse a fim de preservar a validade externa. Nenhuma informação sobre o desempenho dos testes físicos experimentais foi dada até que os voluntários finalizassem o estudo. O desempenho foi avaliado pelo trabalho total realizado (kJ) e a média de potência em watt (W) a cada 2 min ao longo da prova contrarrelógio.

4.5. Protocolo de Suplementação

Importante evidenciar que o preparo das soluções foi feito por um pesquisador fixo que não esteve envolvido com o projeto. Os pesquisadores foram cegos quanto as bebidas testadas, onde os códigos só foram desvendados após as análises estatísticas. Os suplementos foram diluídos em água e receberam adição de suco em pó (FIT, sabor Laranja) de modo a “mascarar” os sabores. O suco contém 9,3 g de maltodextrina por sachê de 10 g, que foi usado um por teste físico experimental. Nas familiarizações os voluntários também receberam água com suco FIT, nas mesmas quantidades das bebidas para ir se adaptando com o protocolo de suplementação. Ao longo de todo teste físico experimental, foi ingerido 200 mL a cada 20 minutos de exercício, sendo que os 200 ml poderiam ser ingeridos ao longo dos 20 minutos a gosto do voluntário.

As concentrações das soluções de maltodextrina, isomaltulose e trealose foram de 10%, 5% e 5% (Tabela 3). Os dissacarídeos tiveram concentrações mais baixas para evitar desconfortogastrointestinal (Oosthuysen, et al. 2015), mais frequentemente relatado com doses > 5%. Já a diluição mais concentrada foi a da maltodextrina devido as recomendações de até 60g de carboidrato por hora (Jeukendrup 2011).

Tabela 3. Quantidade total de carboidratos ingeridos em cada bebida.

Condição	Quantidade de CHO (g)	CHO suco FIT (g)	Total de CHO (g)
Placebo	0	9,3	9,3
Isomaltulose	50	9,3	59,3
Maltodextrina	100	9,3	109,3
Tralose	50	9,3	59,3

Testes de palatabilidade foram realizados com nove outros voluntários que não estavam cientes do estudo e nem dos suplementos testados, para avaliar se poderia haver diferenças entre os sabores dos carboidratos misturados com (FIT, sabor Laranja). O teste foi realizado em duas etapas. Primeiro, foi disponibilizado quatro copos com aproximadamente 180 ml de cada suplemento na mesma diluição a ser ofertada durante os testes físicos experimentais e um copo de água.

Os pesquisadores citavam que nesses copos poderiam ter bebidas diferentes ou iguais e solicitavam que os voluntários experimentassem as bebidas. A partir disso os voluntários preenchiam uma tabela caracterizando a aparência, cheiro, textura, gosto, aceitabilidade e

doçura (ruim; neutro; bom) e também a intensidade da doçura (Normal; Moderada; Intensa) (Apêndice 1).

Após preencher a tabela eles respondiam se achavam que as bebidas tinham mesmo sabor e se as bebidas poderiam ser as mesmas. Após essa parte os pesquisadores informavam que suplementos estavam nos copos porém não falavam qual a ordem, e pedia para eles preencherem qual suplemento eles achavam que tinha em qual copo e o porquê achavam isso.

4.6. Recordatórios alimentares

Devido ao tipo de dieta do indivíduo estar relacionada diretamente com as concentrações de glicogênio muscular (Bergstrom, et al. 1967), foram aplicados recordatórios alimentares de 24 h nos cinco últimos testes físicos experimentais.

Os recordatórios foram aplicados por um nutricionista treinado, com auxílio de imagens de medidas caseiras. Para calcular os macronutrientes foi utilizado o *software* Dietbox onde foram convertidas as medidas caseiras para unidades em gramas. Foram analisados os teores de proteínas, carboidratos e lipídios das 24 h antes do teste e também da última refeição que antecedia o teste para controle dos estoques de glicogênio antes do início do teste.

4.7. Análises Sanguíneas

Foram realizadas coletas sanguíneas nos quatro testes físicos experimentais. Um pesquisador treinado fez uma punção na veia antecubital no braço do voluntário antes do teste e a partir da mesma foram realizadas dez coletas sanguíneas: a cada 20 minutos (0; 20; 40; 60; 80; 100; 120 minutos), para análise de glicose, lactato. Além dessas coletas, também foram realizadas mais três coletas extras ao final dos três estágios de 2,5 W/kg durante o teste (Figura 2), devido os mesmos serem os estágios com maior carga.

As análises de lactato e glicose foram realizadas imediatamente após cada coleta por meio de Stat ProfilePrime Plus® (Nova Biomedical, Estados Unidos da América).

4.8. Biópsia muscular por agulha de sucção.

As biópsias foram realizadas por médico experiente (Dr. Luiz Riani), no laboratório do Grupo de Fisiologia Aplicada & Nutrição na Escola de Educação Física e Esporte (EEFE-USP). Para a realização do procedimento, o voluntário se mantém deitado em uma maca, mantendo os joelhos estendidos e a musculatura relaxada. O médico faz a assepsia do local, entre o ponto

médio da patela e do trocânter maior, em seguida, administrou 3 mL de xilocaína a 1% para anestésiar o local. A aplicação do anestésico foi feita com agulhas hipodérmicas descartáveis de forma subcutânea. Após assepsia e anestesia, foi feita duas incisões para a entrada da agulha de biópsia no tecido muscular pré e pós teste físico experimental.

Para tanto, o médico responsável utilizou uma lâmina de bisturi nº11, esterilizada, individual e descartável para realizar a incisão de aproximadamente 0,5 centímetros de extensão na pele e na fáscia muscular. O indivíduo não sentiu qualquer dor durante a realização deste procedimento, uma vez que não há terminações nervosas sensitivas a dor na fáscia muscular ou no próprio músculo.

O procedimento de biópsia muscular foi realizado a partir da utilização de uma agulha especialmente desenvolvida para extrair pequenas amostras de músculo (agulha de Bergstrom). A agulha de biópsia, esterilizada e de uso individual, foi então inserida pelo médico responsável através do pequeno orifício gerado pela incisão. Após uma sucção, aplicada na extremidade superior externa da agulha por uma seringa de 120 mL, foi extraída uma pequena amostra (aproximadamente 100 miligramas) da porção lateral e mais volumosa do vasto lateral, cuja quantidade foi suficiente para todas as análises propostas.

Os voluntários foram sempre informados dos procedimentos que tomarão sequência, e após a retirada da agulha, foi aplicada pressão sobre o ponto de incisão para prevenir sangramento. A incisão foi então fechada com bandagem esterilizada e coberta com uma pequena atadura para prevenir o seu desprendimento durante o teste. Ao fim das duas horas de teste o voluntário foi novamente colocado deitado na maca, a bandagem foi retirada, o procedimento assepsia foi refeito e novamente fizemos a biópsia muscular através do segundo orifício feito no momento da biópsia pré-teste em até dez minutos após o termino do teste.

A região então foi fechada com outra bandagem esterilizada e coberta com uma pequena atadura. O voluntário foi instruído a manter a bandagem por 24 horas e a manter a incisão limpa e seca pelo período de 72 horas. As amostras foram imediatamente congeladas e armazenadas em nitrogênio líquido para análise de glicogênio muscular.

4.9. Análise de glicogênio muscular.

Para a preparação da amostra foram utilizado 10 mg de tecido com 100 ml de água em gelo, os homogeneizados foram fervidos por cinco minutos, para inativar enzimas, posteriormente, centrifugadas a 13.000 x g por cinco minutos, para ser removido material insolúvel e o sobrenadante e então as amostras foram ajustadas para um volume final de 50 mL com tampão de hidrólise.

Para a análise do glicogênio, foi utilizado o kit (Glycogen Assay Kit; Sigma-Aldrich®). Os homogeneizados foram adicionados as placas com 96 poços em duplicata, sendo que nos primeiros foram utilizados para o branco e a mistura de glicogênio padrão do kit par montar a curva padrão. Foram adicionados 2 mL da mistura de enzimas de hidrólise aos ensaios colorimétricos, misturados e incubados por 30 minutos em temperatura ambiente. Posteriormente adicionados mais 50 mL da “Master Reaction Mix” a cada um dos os poços e incubados novamente por 30 minutos a temperatura ambiente. Para mensurar as amostras foi utilizado ensaio colorimétricos, com absorvância de 570 nm. Após a leitura foi subtraído os valores obtidos de cada amostra da amostra branco para obter os valores das concentrações de glicogênio.

5. ANALISES ESTATÍSTICAS

Foi utilizado o modelo misto unidirecional para determinar o efeito do suplemento (quatro níveis: isomaltulose, placebo, maltodextrina e trealose) nas variáveis de exercício (trabalho total realizado e potência média), variáveis sanguíneas (glicose e lactato sanguíneo), ingestão dietética (proteínas, lipídios carboidratos) e no jejum pré teste. Foi utilizado o modelo misto para determinar o efeito do suplemento (quatro níveis: isomaltulose, controle, maltodextrina e trealose) e tempo (seteníveis: 0, 20, 40, 80, 100 e 120 min) nas variáveis sanguíneas (glicose e lactato). Os indivíduos foram considerados como um fator aleatório para todos os modelos mistos. Ajustes de Tukey- Kramer foram realizados quando um valor F significativo foi obtido. A normalidade dos dados foi determinada pelo teste de Kolmogorov-Smirnov. O nível de significância assumido será $p < 0,05$.

Os tamanhos de efeito g de Hedge com uma pequena correção de tamanho de amostra e intervalos de confiança [ICs] de 95% foram calculados para o desempenho do exercício (Trabalho total kJ e Média de potência), com valores mínimos de limiar de 0,01, 0,2, 0,5 e 0,8 usados para descrever os tamanhos de efeito como muito pequenos , pequeno, moderado e grande (Sawilowsky, 2009).

Todas as análises foram feitas usando o software SAS® Studio online. Os dados foram apresentados com média e ± 1 desvio padrão. Os questionários do teste de palatabilidade foram avaliados através de uma tabela de contingência 4x3 e o teste exato de Fisher foi utilizado para verificar diferenças nas frequências das respostas entre as bebidas. Este teste foi escolhido devido à baixa frequência de resposta em alguns quesitos (< 5), sendo assim o teste preferível nesta situação.

6. RESULTADOS

6.1. Desempenho

Durante o contrarrelógio de 20 minutos, houve efeito das bebidas no trabalho total em kJ ($p = 0,02$) (Figura 3) e na média de potência em watts ($p = 0,03$) (Tabela 4). A análise post-hoc mostrou diferença no trabalho total entre as bebidas, trealose ($302,25 \pm 39,58$ kJ) e controle ($287,12 \pm 48,78$ kJ; $p = 0,02$, $d = 0,33$ pequeno efeito $[-0,44, 1,10]$). Além disso, houve uma tendência de diferença entre as bebidas, maltodextrina ($298,76 \pm 40,89$ kJ) e controle ($287,12 \pm 48,78$ kJ; $p = 0,07$, $d = 0,26$ pequeno efeito $[-0,52, 1,02]$) nesta variável (Figura 3). Todos os tamanhos de efeito restantes entre as sessões foram muito pequenos (palatina vs. placebo, $d = 0,19$ $[-0,59, 0,96]$; trealose vs. maltodextrina, $d = 0,08$ $[-0,69, 0,85]$; trealose vs. palatinose, $d = 0,14$ $[-0,62, 0,91]$; maltodextrina vs. palatinose, $d = 0,06$ $[-0,71, 0,83]$).

Na média de potência, a análise post-hoc mostrou um desempenho melhorado com trealose em comparação com o controle ($251,9 \pm 33,0$ vs. $241,0 \pm 39,6$ W, $p = 0,03$ $d = 0,29$ efeito pequeno $[-0,48, 1,06]$), mas não houve outras diferenças entre as sessões (todas $p \geq 0,15$). O tamanho do efeito entre a maltodextrina e o placebo também foi muito pequeno ($d = 0,21$ $[-0,59, 0,96]$), mas os tamanhos de efeito remanescentes foram muito pequenos.

Tabela 4. Dados obtidos durante as os testes físicos experimentais, separados pelas bebidas, durante o contrarrelógio de 20 min. DP, desvio padrão; FCM, frequência cardíaca média. * $P=0.03$ do placebo.

Contrarrelógio 20min												
Condições												
Desfecho	Placebo			Isomaltulose			Malto		Trealose			
	Média	DP	N	Média	DP	N	Média	DP	N	Média	DP	N
Potência média (W)	241,03	39,59	13	246,73	36,55	13	249,02	34,08	13	251,92*	32,99	13
FCM (bpm)	163	12	13	164	10	13	165	12	13	165	11	13

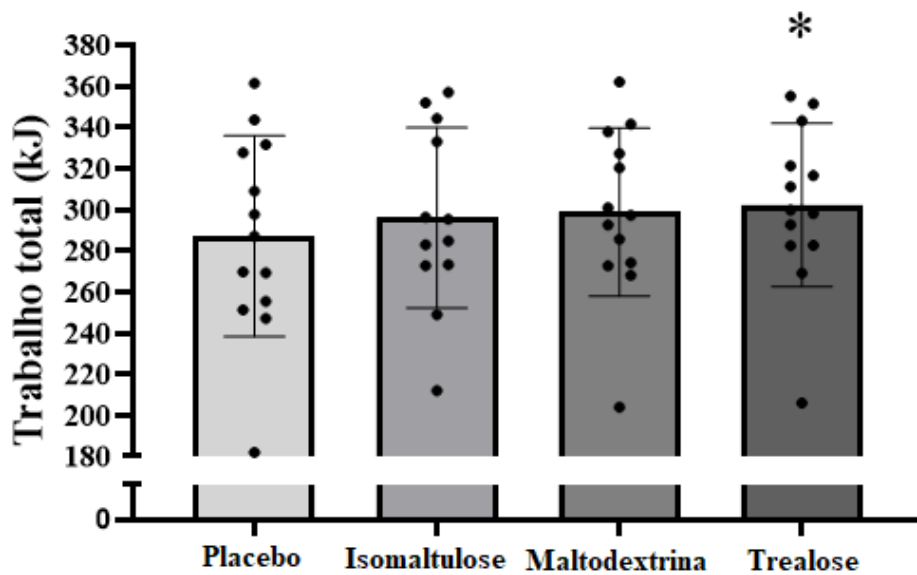


Figura 3. Dados do trabalho total (kJ) em cada teste físico experimental, durante os 20 minutos de contra relógio, $n = 13$. * $P=0.02$ do placebo.

6.2. Análises sanguíneas

Houve efeito da bebida ($p=0,03$) e tempo ($p<0,0001$) sobre a glicemia (Figura 4), mas não houve interação bebida x tempo ($p=0,22$).

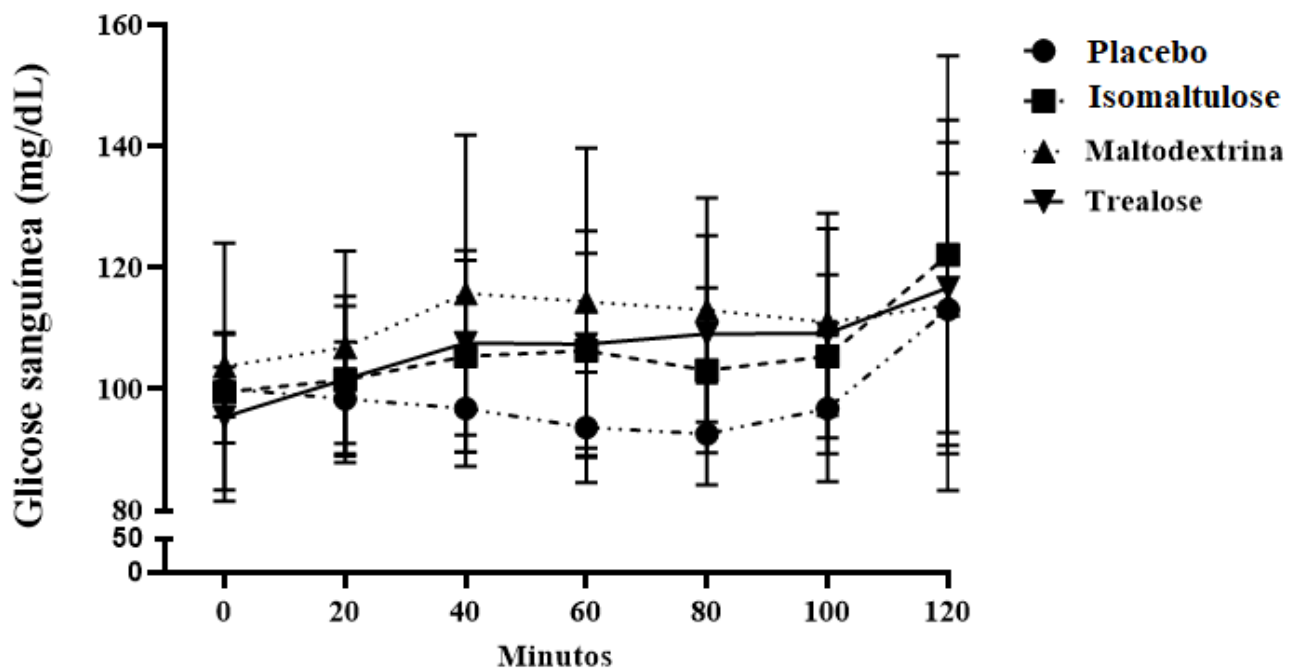


Figura 4. Glicose sanguínea durante os testes físicos experimentais (placebo; isomaltulose; maltodextrina; trealose) de simulação deciclismo. DP, desvio padrão.

Na análise da interação entre bebida e tempo da glicemia sanguínea pré e pós, o contrarrelógio de 20 minutos (Figura 5) não foi encontrado efeito estatístico para bebida ($p \geq 0,62$) e nem para interação entre bebida x tempo ($p \geq 0,54$), mas encontramos para tempo ($p = 0,005$).

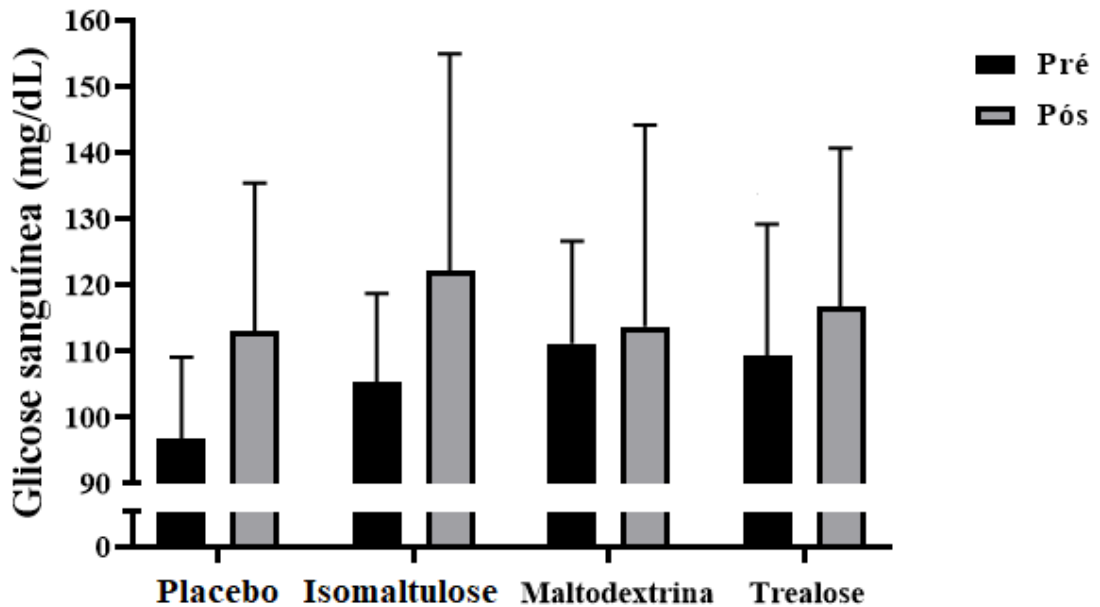


Figura 5. Dados da glicemia sanguínea (mg/dL), pré e pós o contrarrelógio de 20 minutos em pra cada bebida.

Na análise de interação entre a bebida e tempo da concentração de lactato no sangue, pré e pós o contrarrelógio de 20 minutos (Figura 6), não foi encontrado efeito estatístico para bebida ($p \geq 0,37$) e nem para interação bebida x tempo ($p \geq 0,30$) mas encontramos para o tempo ($p \leq 0,001$). O lactato aumentou em todas as sessões durante o contrarrelógio.

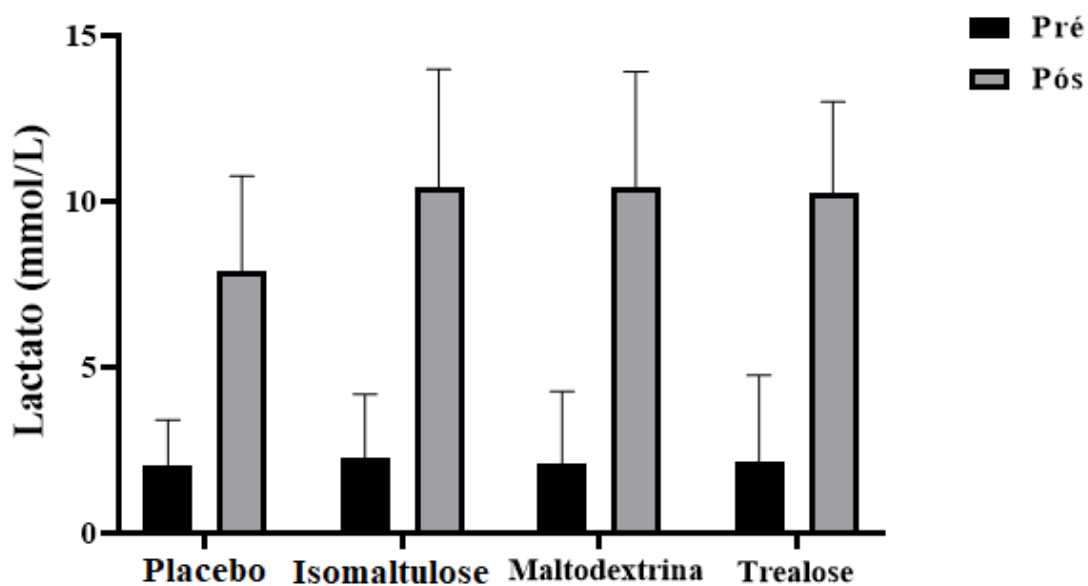


Figura 6. Dados de lactato sanguíneo (mmol/L) pré e pós o contrarrelógio de 20 min em cada bebida.

6.3. Glicogênio muscular

Não houve efeito de bebida ($P = 0,86$) ou interação bebida x tempo ($P = 0,26$), mas houve efeito de tempo ($P < 0,0001$), com menores valores pós-exercício *versus* pré-exercício (Figura 7).

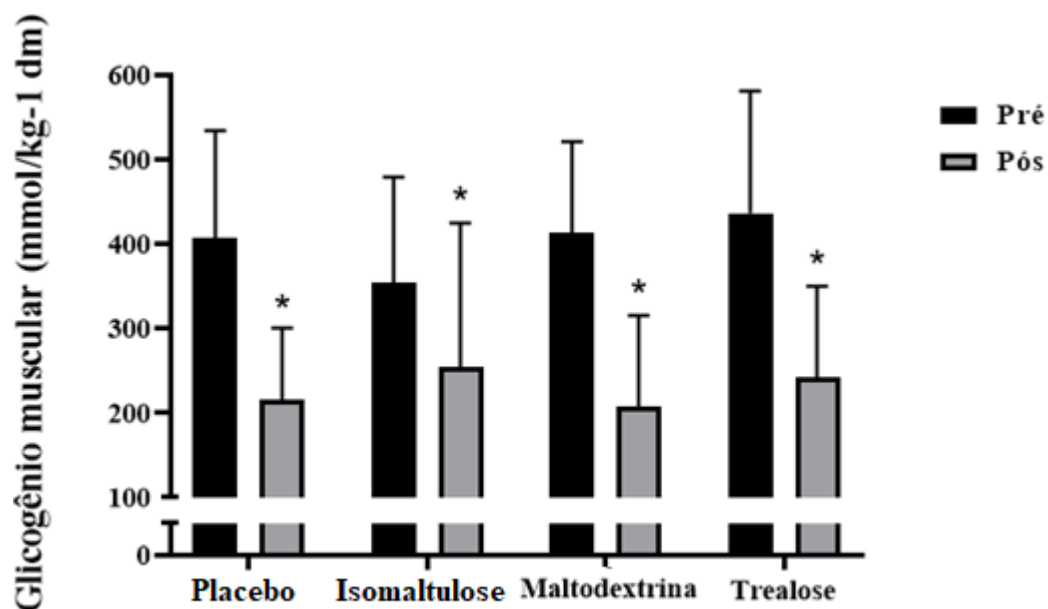


Figura 7. Dados de glicogênio muscular (mmol/kg-1 dm) pré e pós cada um dos testes físicos experimentais. * $P \leq 0,0001$ do pré.

6.4. Recordatório alimentar

Segundo a análise estatística dos recordatórios de 24 h (Tabela 5), não houve diferença estatística na ingestão de proteína ($p = 0,06$), na ingestão de carboidratos ($p = 0,98$) e de lipídios ($p = 0,95$) em gramas entre as bebidas.

A análise individual da última refeição (Tabela 5) que antecedeu o teste, não encontramos diferença estatística para ingestão de proteínas ($p = 0,55$), lipídios ($p = 0,25$) e carboidratos em gramas ($p = 0,09$), por mais que não tinha uma diferença estatisticamente significativa, a ingestão de carboidrato foi maior na condição controle ($82,05 \pm 58,45$ g) e trealose ($79,80 \pm 33,56$ g), e menor na condição isomaltulose ($66,16 \pm 31,15$ g) e maltodextrina ($47,01 \pm 22,65$ g). O tempo de jejum entre as bebidas (Tabela 6), não foi diferente ($p = 0,21$).

Tabela 5. Dados da análise do consumo alimentar obtidos a partir do recordatório de 24 h e refeição pré- teste físico experimental, demonstrados por média e desvio padrão (DP).

Bebida	Consumo alimentar											
	Recordatório alimentar de 24h						Recordatório alimentar refeição pré-teste					
	Proteínas (g)		Lipídios (g)		Carboidratos (g)		Proteínas (g)		Lipídios (g)		Carboidratos (g)	
	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP
Placebo	127	± 72	85	± 52	285	± 132	42	± 41	25	± 17	83	± 59
Isomaltulose	148	± 85	130	± 86	287	± 130	33	± 29	19	± 17	48	± 23
Maltodextrina	97	± 32	82	± 38	274	± 132	29	± 15	14	± 11	67	± 32
Tralose	124	± 42	80	± 30	283	± 88	39	± 27	23	± 28	80	± 34

Tabela 6. Dados do tempo de jejum pré-teste físico experimental, demonstrado por média e desvio padrão (DP) $p = 0,21$.

Bebida	Tempo de jejum		
	Média (h)		DP
Placebo	3,30	±	0,48
Isomaltulose	4,06	±	1,12
Maltodextrina	3,42	±	0,48
Tralose	3,42	±	0,54

6.6. Teste de palatabilidade

Para aparência, cheiro, textura e doçura foi encontrado valor de $p \geq 0,49$ demonstrando que as bebidas foram similares nessas características, o que dificulta alguma possibilidade dos voluntários diferencia-las. Entretanto para gosto e aceitabilidade, tivemos um $p \leq 0,02$ (Figura 8).



Figura 8. Número de votos (bom, neutro e ruim), recebidos por cada bebida, classificados por: aceitabilidade; aparência; cheiro; gosto; doçura e textura

7. DISCUSSÃO

Este estudo mostrou que a suplementação de trealose melhorou o trabalho total realizado e a média de potência do contrarrelógio de ciclismo de 20 minutos ao final de 100 minutos de ciclismo intermitente em comparação com uma solução placebo, mas não em comparação com a maltodextrina e isomaltulose. Cabe destacar que a trealose obteve resultado similar ao dobro da dose com maltodextrina, que é o suplemento “padrão-ouro”, indicado nos protocolos internacionais para suplementação intra-treino. No entanto, os outros carboidratos não melhoraram o desempenho em relação ao placebo.

Este estudo não foi o primeiro a mostrar que a suplementação de trealose melhorou o desempenho em relação a maltodextrina (Hamada N., et al; 2021). Um recente estudo comparou o efeito da maltodextrina e da trealose em uma série de quatro testes Wingate de 30 segundos após 60 minutos intermitente de ciclismo a 40% do $\dot{V}O_{2max}$, os autores mostraram que os indivíduos que suplementaram a trealose tiveram menor redução na potência nos wingates, portanto, o consumo de trealose pode obter resultados desejáveis, para aumentar o desempenho do exercício de resistência. Os resultados aqui concordam parcialmente com esse conceito, mas ainda não está claro por que apenas a trealose melhorou o desempenho do exercício. Uma vez que o exercício prolongado reduz os estoques hepáticos e musculares de glicogênio, e a ingestão do carboidrato durante o exercício deve prevenir essa redução e melhorar o desempenho (Cermak N.M; van Loon L.J; 2013), era esperado que os outros suplementos fornecidos durante o teste (maltodextrina e isomaltulose), melhorassem o desempenho, entretanto, curiosamente, não melhoraram estatisticamente o desempenho em comparação ao placebo, embora na suplementação de maltodextrina, houve uma tendência de melhora e o tamanho de efeito foi semelhante ao da trealose.

As recomendações nutricionais para exercícios de resistência de duas horas, como o realizado aqui, são que os indivíduos devem consumir 30 - 60 g·h⁻¹ para um desempenho ideal (Jeukendrup 2014). A dose de dissacarídeos usada aqui estava na extremidade inferior dessas recomendações, mas foi escolhida para evitar desconforto gastrointestinal comum quando grandes quantidades são fornecidas (Oosthuyse, et al. 2015). A dose de maltodextrina fornecida foi maior para garantir a comparação com uma abordagem “padrão-ouro” para a ingestão de carboidratos. Mesmo seguindo as recomendações, não encontramos efeito para maltodextrina,.

Outro ponto a ser observado, é que, a carga relativa ao peso dos voluntários, no teste de simulação de ciclismo de 100 minutos, pode não ter sido suficiente para atingir o efeito de desgaste esperado. Utilizamos um protocolo padronizado de cargas relativas ao peso dos

voluntários, com isso os voluntários mais bem treinados e mais leves, se beneficiaram de cargas mais leves durante os 100 minutos intermitentes, pois não houve nenhuma correção de acrodo com o nível de treinamento desses voluntários. Desse modo, os voluntários chegaram aos 20 minutos finais mais preparados e assim, atenuando o efeito do suplemento. Para os próximos estudos é interessante rever essa tipo de incremento de carga e ao invés de definir pelo peso, definir pelo percentual do $\dot{V}O_{2max}$ obtido pelo teste incremental.

A trealose e a isomaltulose são suplementos baixo índice glicêmico, desse modo elas são caracterizadas por desenvolver uma resposta glicêmica lenta e uma resposta á insulina atenuada em comparação a maltodextrina (Jentjens, R. L., and A. E. Jeukendrup 2003). O aumento dos níveis de glicose no sangue com a suplementação da maltodextrina foi mais acentuado que na suplementação de trealose e isomaltulose (Figura 4).

Nossos achados estão de acordo com estudos recentes que comparou os efeitos da ingestão de trealose e da glicose durante o exercício. Os aumentos da glicemia e insulina sanguínea são mais graduais na suplementação de trealose do que na de glicose. Essa característica da suplementação da trealose, induziu a maiores níveis de glicose sanguínea nas fases posteriores do exercício e os autores observaram que a suplementação de trealose foi capaz de reduzir a queda no desempenho em wingates do protocolo, que eram realizados após o protocolo de exercício intermitente estacionário e associaram essa melhora a capacidade de manutenção da glicemia da trealose (Hamada N., et al; 2021).

A trealose é um disacárido composto por duas moléculas de glicose ligadas, são absorvidas após a hidrólise da mesma pela trealase, enzima essa responsável por degradar a trealose que é secretada no intestino delgado (Yoshizane C. et al. 2017). Um estudo de Oku T(2000) investigou a atividade da enzima trealase em indivíduos em repouso. Observaram que níveis elevados de glicose e insulina foram observado em participantes que tinham alta atividade da enzima trealase, já em participantes com baixa atividade da enzima não foi possível observar tal mudança. Os autores explicam que esse efeito foi devido a trealose não ter sido totalmente digerida ou absorvida no intestino delgado, sugerindo que a degradação da glicose pode ser afetada pela atividade da trealase no indivíduo. Não investigamos a atividade da trealase nos voluntários mas, esse achado explica, porque a trealose tem um índice glicêmico mais reduzido que a maltodextrina.

Medimos o conteúdo de glicogênio muscular para determinar se quaisquer diferenças no desempenho poderiam ser explicadas pela preservação do conteúdo de glicogênio muscular. Estudos mostraram que a diminuição do conteúdo de glicogênio muscular está associada a uma redução da liberação de cálcio do retículo sarcoplasmático, o que afeta negativamente a

contração muscular (Gejl, et al. 2014). O glicogênio muscular não foi diferente entre as sessões, no entanto, sugerindo que as diferentes formas de carboidratos não influenciaram na preservação do glicogênio muscular durante o exercício, porém, mais investigações são necessárias.

Em nosso estudo, realizamos duas biopsias, pré e pós o teste físico experimental, porém nosso protocolo foi dividido de duas formas 100 minutos com intensidades padronizadas e 20 minutos contrarelógio, desse modo o efeito poupador seria mais evidente se comparássemos a biopsia pré com uma biopsia adicional antes do início do contrarelógio. Estamos especulando que pode ter havido um efeito poupador que fez com que na situação *trealose*, os voluntários iniciaram o contrarelógio com maior disponibilidade de glicogênio muscular e com isso obteve melhores resultados no desempenho. Além disso, medimos apenas o glicogênio no músculo inteiro, no entanto, o músculo não é um tecido uniforme e é composto por vários tipos de fibras (tipo I, tipo IIa, tipo IIx) que possuem conteúdos distintos de glicogênio. Além disso, o glicogênio não está apenas localizado entre as diferentes fibras musculares, mas também dentro dos compartimentos subcelulares (intramiofibrilar, intermiofibrilar e subsarcolemal) (Nielsen, et al. 2011). A quantificação de todo o músculo, portanto, pode não ser o método mais preciso para elucidar as vias complexas pelas quais a disponibilidade de glicogênio muscular pode influenciar o desempenho do exercício, e em vez disso, a localização subcelular e de fibra única pode melhorar ainda mais a compreensão desse tópico.

Os recordatórios foram analisados de duas formas, recordatório de 24 horas e recordatório da última refeição antes do início do teste, para desconsiderar qualquer efeito que possa ter alterado os dados de desempenho. Segundo as análises estatísticas do recordatório de 24 horas, não houve diferença estatística entre as condições e também não houve diferença estatística entre as concentrações de glicogênio muscular do início das sessões experimentais. Na análise da última refeição antes do início do teste, não foi encontrada diferença estatística, entretanto, a ingestão de carboidrato foi maior na condição controle ($82,05 \pm 58,45$ g) e *trealose* ($79,80 \pm 33,56$ g), e menor na condição *isomaltulose* ($66,16 \pm 31,15$ g) e *maltodextrina* ($47,01 \pm 22,65$ g). Essas diferenças na ingestão de carboidrato pre-teste podem ter mascarado o efeito da *isomaltulose* e *maltodextrina* no desempenho. Além disso observamos se poderia ter um efeito do tempo em jejum dos voluntários influenciando no resultados dos testes uma vez que o voluntário tivesse no período pós prandial poderia se beneficiar de concentrações mais elevadas de glicose sanguínea e estoques de glicogênio, mas não houve diferenças estatísticas no tempo de jejum dos voluntários ($p = 0,21$).

Este estudo tem limitações, além da falta de análise de glicogênio de fibra única e subcelular. A suplementação de trealose e palatinose pode induzir desconforto gastrointestinal (Oosthuysen, et al. 2015), no entanto, não medimos isso aqui. No entanto, a dose empregada foi projetada para evitar quaisquer efeitos colaterais desconfortáveis, enquanto, informalmente, não houve relatos de desconforto com nenhuma bebida. As diferentes quantidades de carboidratos também podem ser consideradas uma limitação do estudo, porém, aumentar a quantidade de dissacarídeos fornecidos pode ter aumentado o desconforto e a quantidade de líquido fornecida devido à dificuldade de dissolução desses carboidratos. Portanto, nosso objetivo é fornecer a maior quantidade desses carboidratos alternativos, evitando qualquer problema. Para determinar adequadamente se esses suplementos valem a pena, achamos importante comparar sua ingestão com a quantidade padrão-ouro de glicose para exercício de 2 h de duração, ou seja, 60 g/h (Jeukendrup 2014). Além disso, nosso estudo não teve sessão controle “não placebo” para determinar o efeito do placebo no desempenho (Marticorena, et al. 2021). Uma limitação final é a variação na dieta pré-teste. Embora estatisticamente não foi significativo, houve considerável variação individual na ingestão alimentar, incluindo a ingestão de carboidratos, enquanto o conteúdo de glicogênio muscular basal também pareceu variável dentro dos indivíduos (por exemplo, diferenças de ~ 80 – 400 mmol·kg⁻¹·dm). Novos estudos devem garantir que os participantes mantenham sua ingestão alimentar sob controle mais rigoroso, potencialmente até mesmo padronizando a dieta nos dias anteriores aos testes.

Esses dados sugerem que a suplementação de trealose nas doses fornecidas aqui são pelo menos tão eficazes quanto a suplementação de maltodextrina em altas doses para esse tipo de atividade de resistência. Não se pode descartar que exercícios de maior duração possam ter apresentado resultados diferentes, mas, para exercícios de até 2 h de duração, 30 g·h⁻¹ de trealose parece ser ideal para o desempenho do exercício.

Em conclusão, a suplementação de trealose ao longo do exercício de resistência melhorou o desempenho no ciclismo e parece ser uma fonte de carboidratos apropriada para tarefas de exercício de até 2 h.

8. DESCRIÇÃO DE ATIVIDADES DESENVOLVIDAS DURANTE O PERÍODO DE MESTRADO.

Durante o período do mestrado, apesar de diversos momentos que passamos dificultando nossas coletas, finalizamos o número de voluntários planejados no estudo, desenvolvi alguns projetos com os colegas de laboratório e realizei matérias que demandavam um prolongado período de estudo. Além disso tive a oportunidade de escrever e apresentar de forma online sobre meu tema de mestrado. Obtive os 16 créditos necessários para a qualificação do Mestrado. Na Tabela 7 encontram-se os conceitos obtidos nas disciplinas que cursei.

Tabela 7. Disciplinas cursadas até o momento e os conceitos obtidos.

Sigla	Disciplina	Início	Término	Créditos	Avaliação
EFP5773-2/2	Aplicações e Implicações de Conceitos de Estatística nos Estudos da Educação Física e Esporte (Escola de Educação Física e Esporte - Universidade de São Paulo)	05/03/2020	28/05/2020	6	A
EAH5002-1/2	Planejamento de Experimentos e Análise Estatística de Dados (Escola de Artes, Ciências e Humanidades - Universidade de São Paulo)	12/08/2020	24/11/2020	10	A

8.1. Artigos publicados/aceitos para publicação.

1. Perim, P., **Gobbi, N.**, Duarte, B., Oliveira, L.F., Costa, L.A.R., Sale, C., Gualano, B., Dolan, E. and Saunders, B. Beta-alanine did not improve high-intensity performance throughout simulated road cycling. *Eur J Sport Sci.* Aug; 22 (8):1240-1249, 2022.
2. Saunders, B; **Gobbi, N.** Location location location: muscle glycogen content and endurance exercise. *Journal of Physiology*, v. 599, p. 19-21, 2021.
3. Perim, P; Marticorena, F; Ribeiro, F; Barreto, G; **Gobbi, N**; Kerksick, C; Dolan, E; Saunders, B. Can the Skeletal Muscle Carnosine Response to Beta-Alanine Supplementation Be Optimized? *Frontiers in Nutrition*, v. 6, p. 1-10, 2019.
4. Naderi, A.; **Gobbi, N.**; Ali, A.; Berjisian, E.; Hamidvand, A.; Forbes, S.C.;

Koozehchian, M.S.; Karayigit, R.; Saunders, B. Carbohydrates and Endurance Exercise: A Narrative Review of a Food First Approach. *Nutrients*, 15, 1367, 2023.

8.2. Resumos publicados em anais de congressos.

1. Perim, P., **Gobbi, N.**, Duarte, B., Oliveira, L.F., Costa, L.A.R., Sale, C., Gualano, B., Dolan, E. and Saunders, B. (2021). Beta-alanine did not improve high-intensity performance throughout simulated road cycling. American College of Sports Medicine, Washington, USA [Online]. [GSSI – ACSM Young Investigator in Sports Nutrition Award].

8.3. Trabalhos apresentados.

1. NAPAN - Perspectivas Interdisciplinares em Alimentos e Nutrição, realizado em 2019, na Escola Politécnica da USP – SP. “Efeito da suplementação de diferentes tipos de carboidratos durante o exercício no desempenho físico e nas respostas metabólicas”.

2. Apresentação interna em língua inglesa realizada ao pesquisador Lars MacNaughton da Edge Hill University, realizado em 2018, na Faculdade de Medicina da USP – S. “Effects of chronic supplementation of beta-alanine in cyclists”.

3. II Simpósio de Pesquisa da Escola de Educação Física e Esporte – USP, realizado em 2018, na Escola de Educação Física e Esporte – USP. “Suplementação de bicarbonato de sódio no desempenho de um contrarrelógio de ciclismo de 1-km”.

4. III Congresso Multiprofissional do Centro Universitário São Camilo, realizado em 2018, na faculdade São Camilo – SP. “Otimizando a suplementação de Beta-alanina para aumento da carnosina muscular e desempenho físico”.

8.4. Palestras.

11º Meeting Internacional de Nutrição Esportiva e Exercício Físico - UFLA, realizado em 2020, na Universidade Federal de Lavras – MG. “Suplementação de Carboidrato em provas de endurance”.

9. REFERÊNCIAS.

- Abbiss, C. R., and P. B. Laursen
2005 Models to explain fatigue during prolonged endurance cycling. *Sports Med*35(10):865-98.
- Achten, J., et al.
2007 Exogenous oxidation of isomaltulose is lower than that of sucrose during exercise in men. *J Nutr* 137(5):1143-8.
- Atkinson F.S., Foster-Powell K., Brand-Miller J.C.
International Tables of Glycemic Index and Glycemic Load Values: 2008. *Diabetes Care*. 2008;31:2281–2283. doi: 10.2337/dc08-1239.
- Achten, J., and A. E. Jeukendrup
2003 Maximal fat oxidation during exercise in trained men. *Int J Sports Med*24(8):603-8.
- American College of Sports, Medicine, et al.
2007 American College of Sports Medicine position stand. Exercise and fluid replacement. *Med Sci Sports Exerc* 39(2):377-90.
- Arai, C., et al.
2001 Trehalose suppresses lipopolysaccharide-induced osteoclastogenesis bonemarrow in mice. *Nutr Res* 21(7):993-999.
- Benaroudj, N., D. H. Lee, and A. L. Goldberg
2001 Trehalose accumulation during cellular stress protects cells and cellular proteins from damage by oxygen radicals. *J Biol Chem* 276(26):24261-7.
- Bergstrom, J., et al.
1967 Diet, muscle glycogen and physical performance. *Acta Physiol Scand*71(2):140-50.
- Bergstrom, J., and E. Hultman
1967 A study of the glycogen metabolism during exercise in man. *Scand J Clin Lab Invest* 19(3):218-28.
- Brooks, G. A.
2001 Lactate doesn't necessarily cause fatigue: why are we surprised? *J Physiol* 536(Pt1):1.
- Cermak N.M., van Loon L.J.
The use of carbohydrates during exercise as an ergogenic aid. *Sports Med*. 2013;43:1139–1155. doi: 10.1007/s40279-013-0079-0.
- Chambers, E. S., M. W. Bridge, and D. A. Jones
2009 Carbohydrate sensing in the human mouth: effects on exercise performance and brain activity. *J Physiol* 587(Pt 8):1779-94.
- Coyle, E. F., et al.
1986 Muscle glycogen utilization during prolonged strenuous exercise when fed carbohydrate. *J Appl Physiol* (1985) 61(1):165-72.
- Coyle, E. F., and S. J. Montain
1992 Carbohydrate and fluid ingestion during exercise: are there trade-offs? *Med Sci Sports Exerc* 24(6):671-8.
- Currell, K., and A. E. Jeukendrup
2008 Superior endurance performance with ingestion of multiple transportable carbohydrates. *Med Sci Sports Exerc* 40(2):275-81.

- Dahlqvist, A.
1962 Specificity of the human intestinal disaccharidases and implications for hereditary disaccharide intolerance. *J Clin Invest* 41:463-70.
- De Pauw, K., et al.
2013 Guidelines to classify subject groups in sport-science research. *Int J Sports Physiol Perform* 8(2):111-22.
- DeMarco, H. M., et al.
1999 Pre-exercise carbohydrate meals: application of glycemic index. *Med Sci Sports Exerc* 31(1):164-70.
- Echigo, R., et al.
2012 Trehalose treatment suppresses inflammation, oxidative stress, and vasospasm induced by experimental subarachnoid hemorrhage. *J Transl Med* 10:80.
- Faria, E. W., D. L. Parker, and I. E. Faria
2005 The science of cycling: physiology and training - part 1. *Sports Med* 35(4):285-312.
- Faul, F., et al.
2007 G*Power 3: a flexible statistical power analysis program for the social, behavioral, and biomedical sciences. *Behav Res Methods* 39(2):175-91.
- Febbraio, M. A., et al.
2000 Preexercise carbohydrate ingestion, glucose kinetics, and muscle glycogen use: effect of the glycemic index. *J Appl Physiol* (1985) 89(5):1845-51.
- Febbraio, M. A., and K. L. Stewart
1996 CHO feeding before prolonged exercise: effect of glycemic index on muscle glycogenolysis and exercise performance. *J Appl Physiol* (1985) 81(3):1115-20.
- Ferraris, R. P., and J. Diamond
1997 Regulation of intestinal sugar transport. *Physiol Rev* 77(1):257-302.
- Foster, C., D. L. Costill, and W. J. Fink
1979 Effects of preexercise feedings on endurance performance. *Med Sci Sports* 11(1):1-5.
- Gejl, K. D., et al.
2014 Muscle glycogen content modifies SR Ca²⁺ release rate in elite endurance athletes. *Med Sci Sports Exerc* 46(3):496-505.
- Gordon, Burgess, et al.
1925 Sugar content of the blood in runners following a marathon race: With especial reference to the prevention of hypoglycemia: Further observations. *Journal of the American Medical Association* 85(7):508-509.
- Green, H. J.
1997 Mechanisms of muscle fatigue in intense exercise. *J Sports Sci* 15(3):247-56.
- Hamada N., et al.
Single ingestion of trehalose enhances prolonged exercise performance by effective use of glucose and lipid in healthy men. *Nutrients*. 2021;13:1439. doi: 10.3390/nu13051439.
- Heung-Sang Wong, S., et al.
2017 Effect of pre-exercise carbohydrate diets with high vs low glycemic

- index on exercise performance: a meta-analysis. *Nutr Rev* 75(5):327-338.
- Higashiyama, Takanobu
2002 Novel functions and applications of trehalose. *Pure Appl. Chem* 74: 1263–1269.
- Horowitz, J. F., et al.
1997 Lipolytic suppression following carbohydrate ingestion limits fat oxidation during exercise. *Am J Physiol* 273(4):E768-75.
- Jentjens, R. L., and A. E. Jeukendrup
2003 Effects of pre-exercise ingestion of trehalose, galactose and glucose on subsequent metabolism and cycling performance. *Eur J Appl Physiol* 88(4-5):459-65.
- Jentjens, R. L., et al.
2004 Oxidation of combined ingestion of glucose and fructose during exercise. *J Appl Physiol* (1985) 96(4):1277-84.
- Jeukendrup, A.
2014 A step towards personalized sports nutrition: carbohydrate intake during exercise. *Sports Med* 44 Suppl 1:S25-33.
- Jeukendrup, A., et al.
1997 Carbohydrate-electrolyte feedings improve 1 h time trial cycling performance. *Int J Sports Med* 18(2):125-9.
- Jeukendrup, A. E.
2004 Carbohydrate intake during exercise and performance. *Nutrition* 20(7-8):669-77.
- 2010 Carbohydrate and exercise performance: the role of multiple transportable carbohydrates. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 13(4):452-7.
- 2011 Nutrition for endurance sports: marathon, triathlon, and road cycling. *J Sports Sci* 29 Suppl 1:S91-9.
- Jeukendrup, A. E., N. P. Craig, and J. A. Hawley
2000 The bioenergetics of World Class Cycling. *J Sci Med Sport* 3(4):414-33.
- Jones, A. M.
2014 Influence of dietary nitrate on the physiological determinants of exercise performance: a critical review. *Appl Physiol Nutr Metab* 39(9):1019-28.
- Kaplon, R. E., et al.
2016 Oral trehalose supplementation improves resistance artery endothelial function in healthy middle-aged and older adults. *Aging (Albany NY)* 8(6):1167-83.
- Kellett, G. L.
2001 The facilitated component of intestinal glucose absorption. *J Physiol* 531(Pt 3):585-95.
- Kirwan, J. P., D. O'Gorman, and W. J. Evans
1998 A moderate glycemic meal before endurance exercise can enhance performance. *J Appl Physiol* (1985) 84(1):53-9.
- Konig, D., et al.
2016 Substrate Utilization and Cycling Performance Following Palatinose Ingestion: A Randomized, Double-Blind, Controlled Trial. *Nutrients* 8(7).

- Krogh, A., and J. Lindhard
1920 The Relative Value of Fat and Carbohydrate as Sources of Muscular Energy: With Appendices on the Correlation between Standard Metabolism and the Respiratory Quotient during Rest and Work. *Biochem J* 14(3-4):290-363.
- Lepers, R., et al.
2002 Neuromuscular fatigue during a long-duration cycling exercise. *J Appl Physiol* (1985) 92(4):1487-93.
- Levine, Samuel A, Burgess Gordon, and Clifford L Derick
1924 Some changes in the chemical constituents of the blood following a marathon race: with special reference to the development of hypoglycemia. *Journal of the American Medical Association* 82(22):1778-1779.
- Lucia, A., J. Hoyos, and J. L. Chicharro
2001 Physiology of professional road cycling. *Sports Med* 31(5):325-37.
- Marticorena, F. M., et al.
2021 Nonplacebo Controls to Determine the Magnitude of Ergogenic Interventions: A Systematic Review and Meta-analysis. *Med Sci Sports Exerc* 53(8):1766-1777.
- Mena, P., M. Maynar, and J. E. Campillo
1991 Plasma lipid concentrations in professional cyclists after competitive cycle races. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 62(5):349-52.
- Neta, T., K. Takada, and M. Hirasawa
2000 Low-cariogenicity of trehalose as a substrate. *J Dent* 28(8):571-6.
- Nielsen, J., et al.
2011 Human skeletal muscle glycogen utilization in exhaustive exercise: role of subcellular localization and fibre type. *J Physiol* 589(Pt 11):2871-85.

- Noakes, T. D.
2000 Physiological models to understand exercise fatigue and the adaptations that predict or enhance athletic performance. *Scand J Med Sci Sports* 10(3):123-45.
- Oosthuysen, T., M. Carstens, and A. M. Millen
2015 Ingesting Isomaltulose Versus Fructose-Maltodextrin During Prolonged Moderate-Heavy Exercise Increases Fat Oxidation but Impairs Gastrointestinal Comfort and Cycling Performance. *Int J Sport Nutr Exerc Metab* 25(5):427-38.
- Oku T., Nakamura S.
2000 Estimation of intestinal trehalase activity from a laxative threshold of trehalose and lactulose on healthy female subjects. *Eur. J. Clin. Nutr.* ;54:783–788. doi: 10.1038/sj.ejcn.1601091
- Pfeiffer, B., et al.
2012 Nutritional intake and gastrointestinal problems during competitive endurance events. *Med Sci Sports Exerc* 44(2):344-51.
- RICKHAM, PP
1964 Human experimentation. Code of ethics of the world medical association. Declaration of Helsinki. *British medical journal* 2(5402):177-177.
- Richards, A. B., et al.
2002 Trehalose: a review of properties, history of use and human tolerance, and results of multiple safety studies. *Food Chem Toxicol* 40(7):871-98.
- Romijn, J. A., et al.
1993 Regulation of endogenous fat and carbohydrate metabolism in relation to exercise intensity and duration. *Am J Physiol* 265(3 Pt 1):E380-91.
- Shulman, R. G., and D. L. Rothman
2001 The "glycogen shunt" in exercising muscle: A role for glycogen in muscle energetics and fatigue. *Proc Natl Acad Sci U S A* 98(2):457-61.
- Smith, J. W., et al.
2013 Curvilinear dose-response relationship of carbohydrate (0-120 g.h(-1)) and performance. *Med Sci Sports Exerc* 45(2):336-41.
- Smith, J. W., et al.
2010 Fuel selection and cycling endurance performance with ingestion of [13C]glucose: evidence for a carbohydrate dose response. *J Appl Physiol* (1985)108(6):1520-9.
- Stellingwerff, T., and G. R. Cox
2014 Systematic review: Carbohydrate supplementation on exercise performance or capacity of varying durations. *Appl Physiol Nutr Metab* 39(9):998-1011.
- Thomas, D. E., J. R. Brotherhood, and J. C. Brand
1991 Carbohydrate feeding before exercise: effect of glycemic index. *Int J Sports Med* 12(2):180-6.
- Thomas, D. T., K. A. Erdman, and L. M. Burke
2016 Position of the Academy of Nutrition and Dietetics, Dietitians of Canada, and the American College of Sports Medicine: Nutrition and Athletic Performance. *J Acad Nutr Diet* 116(3):501-528.
- van Can, J. G., et al.
2009a Reduced glycaemic and insulinaemic responses following

isomaltulose ingestion: implications for postprandial substrate use. *Br J Nutr* 102(10):1408-13.

-
- 2009b Reduced glycaemic and insulinaemic responses following trehalose ingestion: implications for postprandial substrate use. *Br J Nutr* 102(10):1395-9.
- van Can, J. G., et al.
2012 Reduced glycaemic and insulinaemic responses following trehalose and isomaltulose ingestion: implications for postprandial substrate use in impaired glucose-tolerant subjects. *Br J Nutr* 108(7):1210-7.
- van Loon, L. J., et al.
2001 The effects of increasing exercise intensity on muscle fuel utilisation in humans. *J Physiol* 536(Pt 1):295-304.
- Venables, M. C., F. Brouns, and A. E. Jeukendrup
2008 Oxidation of maltose and trehalose during prolonged moderate-intensity exercise. *Med Sci Sports Exerc* 40(9):1653-9.
- Yoshizane C. et al.
Glycemic, insulinemic and incretin responses after oral trehalose ingestion in healthy subjects. *Nutr. J.* 2017;16:9. doi: 10.1186/s12937-017-0233-x.
- Wee, S. L., et al.
1999 Influence of high and low glycemic index meals on endurance running capacity. *Med Sci Sports Exerc* 31(3):393-9.
- Wu, C. L., and C. Williams
2006 A low glycemic index meal before exercise improves endurance running capacity in men. *Int J Sport Nutr Exerc Metab* 16(5):510-27.

10. APÊNDICES (ANEXOS).

Apêndice 1. Questionário de palatabilidade dos suplementos.

MEDICINA

FICHA DE COLETA

USP

NOME: _____ DATA: _____ ORDEM: _____

1. CARACTERÍSTICAS DAS BEBIDAS

	Bebida				
	A	B	C	D	
Aparência					N - Neutro
Cheiro					B - Bom
Textura					R - Ruim
Gosto					
Aceitabilidade					+++ Intenso
Doçura					++ Moderado
					+ Normal

Você acha que as bebidas têm o mesmo sabor? () Sim () Não.

Porque? _____

Você acha que as bebidas são as mesmas? () Sim () Não.

Se não, quais? Porque? _____

2. DIFERENCIE AS BEBIDAS

Bebida	O que é ?	Por que?
A		
B		
C		
D		

Apêndice 2. Ficha do recordatório de 24 horas.

REGISTRO ALIMENTAR					
Nome: _____		CPF: _____			
Data: ___/___/___		Dia da Semana: _____			
Refeição	Horário	Alimentos	Quantidade	Líquidos	Quantidade
Exemplo	07h00	Pão francês Margarina Queijo mussarela	2 unidades pequenas 1 ponta de faca (cheia) 2 fatias médias	Leite desnatado	1 copo de 200 ml
Café da manhã					
Lanche da manhã					
Almoço					
Lanche da tarde					
Jantar					
Lanche da noite					