



A SUPLEMENTAÇÃO DOS AMINOÁCIDOS ASPARTATO E ASPARAGINA AUMENTA O DESEMPENHO FÍSICO AERÓBIO EM RATOS TREINADOS

Willian das Neves

Christiano Robles Rodrigues Alves

Humberto Nicastro

André dos Santos Costa

Antonio Herbert Lancha Junior

Universidade de São Paulo – Brasil

Resumo: Este trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos da suplementação de aspartato (ASP) e asparagina (ASN) no desempenho físico aeróbio em ratos treinados. Para isso, foram utilizados dois grupos experimentais: 1. tratados com placebo (PI; n = 07); e 2. tratados com ASP e ASN (ASP + ASN; n = 07). Ambos os grupos foram submetidos a treinamento aeróbio (4x/sem) e tratados diariamente com seus respectivos suplementos. Após cinco semanas de intervenção, os animais foram submetidos a teste de esforço e eutanasiados para quantificar o glicogênio muscular. Obteve-se como resultado o dado de que o tempo até a exaustão no grupo ASP + ASN foi maior quando comparado com o grupo PI ($42,3 \pm 7,6$ versus $30,8 \pm 7,8$ min; $p = 0,02$). Não houve diferença entre os grupos para o conteúdo de glicogênio muscular ($p = 0,22$). A suplementação de ASP e ASN melhorou o desempenho físico aeróbio em ratos treinados.

Palavras-chave: suplementação nutricional; aminoácidos; desempenho aeróbio.

INTRODUÇÃO

É inquestionável que o desempenho físico em atividades de predominância aeróbia depende da eficiência do metabolismo oxidativo. Portanto, a falta de substratos energéticos durante a prática dessas atividades é sabidamente um fator limitante no fornecimento de *adenosina trifosfato* (ATP) e, conseqüentemente, no desempenho físico. Não obstante, diversas estratégias nutricionais são empregadas na busca de melhores *performances* esportivas, principalmente em modalidades de *endurance*.

Além da suplementação de carboidratos (e.g., dextrose e maltodextrina) (BURKE et al., 2011; JEUKENDRUP, 2010, 2011; PHILLIPS et al., 2011), evidências sugerem que aminoácidos como o aspartato (ASP) e asparagina (ASN) também podem atuar direta ou indiretamente no fornecimento de ATP (CHAMPE; FERRIER; HARVEY, 2009).

Nesse contexto, não são recentes os estudos que investigaram os efeitos da suplementação aguda ou crônica do ASP e da ASN no desempenho físico (TRUDEAU, 2008; ABEL et al., 2005; LANCHA JR. et al., 1995; TRUDEAU; MURPHY, 1993; MAUGHAN; SADLER, 1983; CONSOLAZIO et al., 1964). Esses aminoácidos podem agir na produção de ATP pela formação de piruvato ou intermediários do ciclo de Krebs. A principal característica do ASP é servir como doador de prótons e, junto com a ASN, atuar como precursor de oxaloacetato (CHAMPE; FERRIER; HARVEY, 2009). Além disso, Ohira et al. (1987) demonstraram que a atividade enzimática que promove aumento de oxaloacetato via ASP está aumentada durante o exercício físico de intensidade moderada. Embora esse mecanismo seja bem aceito, dúvidas ainda existem a respeito do potencial ergogênico da suplementação de ASP e ASN no desempenho aeróbio. Assim, alguns estudos em modelos animais foram conduzidos para avaliar e entender a ação desses suplementos no desempenho físico.

Lancha Jr. et al. (1995) demonstraram que a suplementação de ASP e ASN associada à suplementação de Carnitina melhorou o desempenho em teste de esforço máximo, no qual ratos da linhagem Wistar foram colocados em meio aquático com um incremento de 5% do peso corporal até a exaustão. Entretanto, é evidente que a presença da Carnitina no protocolo de suplementação dificulta atribuir essa melhora exclusivamente ao ASP e à ASN. Adicionalmente, Trudeau e Murphy (1993) suplementaram ratos apenas com sal de aspartato e potássio e não encontraram tais efeitos ergogênicos em teste de esforço. Mais recentemente, Marquezi et al. (2003) demonstram interessantes efeitos benéficos da associação de ASP e ASN, sem a adição de qualquer outro suplemento, após teste de esforço máximo em ratos sedentários. Contudo, segundo os autores, foi empregada uma intensidade supralimiar durante todo o período do teste, sendo essa mensurada previamente por teste descontínuo progressivo e definida como a carga subsequente ao limiar anaeróbio. Portanto, os autores especularam que essa melhora no rendimento poderia ser atribuída a uma possível ação tamponante desses aminoácidos via lançadeira aspartato-malato (MARQUEZI et al., 2003).

Diante do exposto, a literatura persiste com uma importante lacuna sobre o possível efeito benéfico da associação do ASP e da ASN no desempenho aeróbio de ratos treinados, uma vez que os estudos conduzidos até o momento em modelos experimentais utilizaram outros compostos e/ou ratos sedentários em suas amostras.

Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos da suplementação de ASP associado à ASN no desempenho físico aeróbio de ratos previamente treinados em meio aquático.

METODOLOGIA

Amostra

A amostra foi composta por 14 ratos Wistar machos com 10 semanas de idade e peso corporal de $244,4 \pm 11,1$ (média \pm desvio padrão). Os animais foram alocados em biotério e mantidos em gaiolas plásticas (três ou quatro animais por caixa). A temperatura ambiente foi de 22° a 24° C em um ciclo de 12 horas (claro: escuro invertido). Água e ração comercial foram oferecidas de modo irrestrito, sendo que a dieta foi normoproteica (14% de proteínas).

Procedimento experimental

Os animais foram randomizados em dois grupos experimentais, a saber: 1. PL: ratos tratados com placebo (água destilada, $n = 07$); e 2. ASP + ASN: ratos tratados com ASP e ASN ($n = 07$). Ambos os grupos foram submetidos a treinamento aeróbio em meio aquático quatro vezes por semana e tratados com seu respectivo suplemento diariamente durante cinco semanas. Após esse período, os animais foram submetidos ao teste de esforço.

Os procedimentos foram aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Escola de Educação Física e Esporte da Universidade de São Paulo (número do protocolo: 2006/33) e estão de acordo com a legislação vigente no Brasil.

Suplementação

A suplementação foi ministrada diariamente através de gavagem. O grupo ASP + ASN recebeu 45 mg/kg/dia de ASP associado a 45 mg/kg/dia de ASN diluídos em água destilada (2ml). O grupo PL recebeu 2ml de água destilada. A suplementação foi ministrada diariamente as 9h00 a.m. Nos dias em que os animais eram exercitados a suplementação acontecia 30 minutos anteriormente ao exercício. De acordo com estudos prévios de nosso grupo (dados ainda não publicados), após 30 minutos da suplementação, a concentração desses aminoácidos encontra-se no pico de sua cinética.

Treinamento e teste de esforço

O treinamento e o teste de esforço ocorreram em meio líquido com profundidade de 60 centímetros. A água foi mantida à temperatura de 29 a 32° C e as sessões foram realizadas durante o ciclo noturno dos animais. Cada sessão do treinamento teve a duração de 30 minutos. A carga aplicada foi aumentada progressivamente até 5,5% do peso corporal de cada animal como descrito a seguir: 1° dia = apenas o peso corporal; 2° dia = sobrecarga de 3% do peso corporal; 3° dia = sobrecarga de 4% do peso corporal; 4° dia = sobrecarga de 5% do peso corporal; a partir do 5° dia de treino = 5,5% do peso corporal. Durante o teste de esforço foi aplicada a carga de 5,5% do peso corporal e os animais foram mantidos em meio líquido até a exaustão. A exaustão foi considerada quando o animal permanecia mais de 10 segundos abaixo da superfície da água, com alterações no padrão motor.

Eutanásia e dosagem do glicogênio muscular

Os animais foram eutanasiados por decapitação logo após o teste de esforço. O músculo gastrocnêmio foi removido e congelado à -80° C para posterior dosagem do conteúdo de glicogênio muscular. Após o descongelamento, cerca de 50 mg de músculo foi digerido em solução contendo hidróxido de potássio (5,5 M) durante 30 minutos em banho fervente (100° C) e, posteriormente, precipitado com etanol 70% e centrifugado (3000rpm por 20 minutos). O sobrenadante foi ressuscitado em ácido sulfúrico para hidrólise do glicogênio em glicose. As concentrações de glicose das amostras foram mensuradas por espectrofotômetro e o valor de absorbância foi ajustado dentro de uma curva construída com concentrações conhecidas de glicose. Esse método foi realizado baseado em Hassid e Abrahams (1957).

Análise estatística

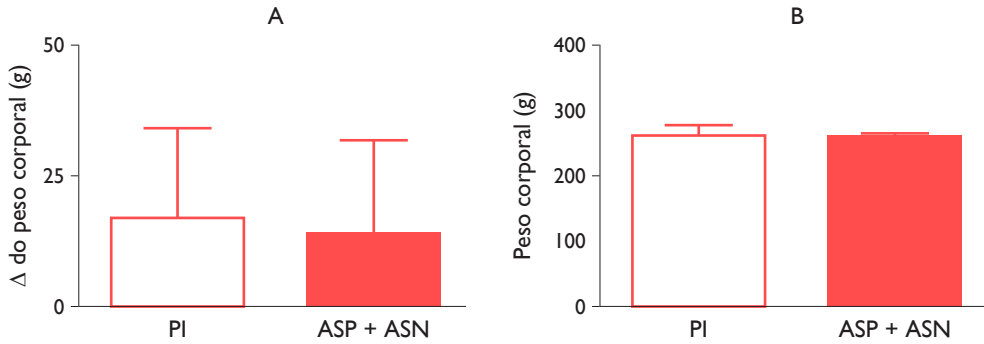
Os dados são expressos em média \pm desvio padrão. Foi empregado teste T não pareado para comparar o peso corporal, o tempo até a exaustão no teste de esforço e o conteúdo de glicogênio muscular entre os dois grupos experimentais. O nível de significância adotado para se rejeitar a hipótese nula foi de $p < 0,05$.

RESULTADOS

Houve um aumento estatisticamente significativo no peso corporal após as cinco semanas de intervenção para ambos os grupos experimentais ($p < 0,0001$). Entretanto, não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos após o período de suplementação ($p = 0,76$; Gráfico 1A), bem como no dia do teste de esforço ($p = 0,87$; Gráfico 1B).

Gráfico 1

Diferença (Δ) do peso corporal entre os momentos “pré” e “pós” suplementação (A) e o peso corporal no dia do teste de esforço (B) de ambos os grupos experimentais



PI = ratos tratados com placebo; ASP + ASN = ratos tratados com ASP e ASN.

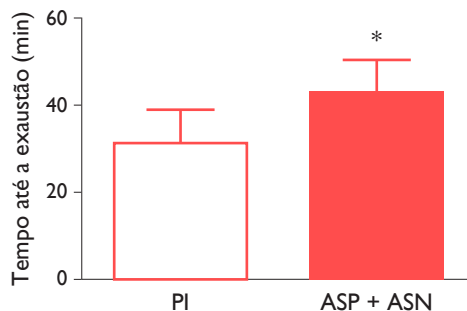
Nenhuma diferença estatisticamente significativa foi encontrada entre os grupos para ambas as análises ($p = 0,76$ e $p = 0,87$, respectivamente).

Fonte: Elaborado pelos autores.

Durante o teste de esforço, o tempo até a exaustão do grupo ASP + ASN foi estatisticamente maior do que o grupo tratado com PI (ASP + ASN = $42,3 \pm 7,6$ versus PI = $30,8 \pm 7,8$; $p = 0,02$; Gráfico 2), sendo 37,1% a diferença entre a média dos grupos.

Gráfico 2

Tempo até a exaustão no teste de esforço



PI = ratos tratados com placebo; ASP + ASN = ratos tratados com ASP e ASN.

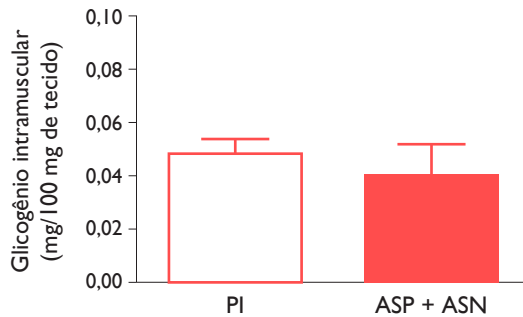
* Diferença estatisticamente significativa quando comparado com o grupo controle ($p = 0,02$).

Fonte: Elaborado pelos autores.

O Gráfico 3 ilustra o conteúdo de glicogênio muscular após o teste de esforço. Não houve diferença estatisticamente significativa quando comparados os dois grupos experimentais ($p = 0,22$).

Gráfico 3

Conteúdo de glicogênio muscular após teste de esforço



PI = ratos tratados com placebo; ASP + ASN = ratos tratados com ASP e ASN.

Não foi encontrada diferença estatisticamente significativa entre os grupos ($p = 0,22$).

Fonte: Elaborado pelos autores.

DISCUSSÃO

O objetivo deste estudo foi avaliar os possíveis efeitos ergogênicos da suplementação dos aminoácidos ASP e ASN no desempenho físico aeróbio em ratos previamente treinados. O nosso principal achado foi um maior tempo até a exaustão dos animais suplementados com ASP e ASN quando comparados aos animais tratados com placebo. Em adição, não houve diferença estatisticamente significativa no conteúdo muscular de glicogênio entre os grupos experimentais após o teste de esforço. Em conjunto, esses achados sugerem que uma possível mobilização de outro nutriente (i.e., aminoácidos ou ácidos graxos) possa ter ocorrido no grupo ASP + ASN, resultando na melhor *performance*.

Embora ainda não demonstrada uma clara relação de causa-efeito entre uma via fisiológica específica e o melhor desempenho encontrado no grupo suplementado com ASP e ASN, algumas hipóteses podem ser levantadas. A primeira que certamente merece destaque é a possível contribuição desses aminoácidos como mediadores do ciclo de Krebs e, conseqüentemente, poupadores do glicogênio muscular. Essa premissa se baseia na característica que o ASP tem de servir como doador de prótons e, junto com a ASN, atuar como precursor de oxaloacetato (mediador do ciclo de Krebs) (CHAMPE; FERRIER; HARVEY, 2009). Reforçando essa hipótese, no presente

estudo ambos os grupos tiveram o mesmo conteúdo de glicogênio muscular para diferentes desempenhos. Assim, baseado no fato de que a falta de substratos energéticos é um dos fatores que pode levar à fadiga muscular, os presentes achados sugerem que outro substrato energético contribuiu significativamente para a formação de mais ATP no grupo suplementado. Paralelamente, a possibilidade de haver uma mobilização e oxidação mais acentuada de lipídios no grupo ASP + ASN também deve ser considerada, uma vez que a maior utilização de ácidos graxos livres parece exercer um efeito poupador de glicogênio (LANCHA et al., 1995).

Nesse contexto, é possível que a suplementação de ASP e ASN influencie no ciclo de Randle, proposto por Randle et al. em 1963. Em suma, o ciclo descreve a competição entre a oxidação da glicose e dos ácidos graxos em diferentes tecidos, incluindo o musculoesquelético. Portanto, uma possível influência do ASP e da ASN no ciclo de Randle também pode explicar o melhor desempenho encontrado no presente estudo, inibindo a via glicolítica e, conseqüentemente, a ação da lactato-desidrogenase. Considerando que um aumento de substratos para a via oxidativa pode desempenhar papel importante na seleção da via metabólica que está sendo predominantemente utilizada, é possível especular também que a influência da suplementação de ASP e ASN no ciclo de Randle explique a menor utilização de glicogênio intramuscular (HUE; TAEGTMYER, 2009). Adicionalmente, a ação da lançadeira aspartato-malato parece estar aumentada após a suplementação desses aminoácidos (MARQUEZI et al., 2003). Embora o teste de esforço empregado neste estudo tenha sido de predominância aeróbia, não podemos descartar uma possível contribuição desses aminoácidos como tamponantes de íons H^+ produzidos pela ativação da via glicolítica (anaeróbia).

Como limitação, este estudo não estabeleceu uma relação de causalidade para um mecanismo específico, uma vez que o seu desfecho primário foi avaliar o efeito da suplementação dos aminoácidos ASP e ASN no desempenho físico. Além disso, não é possível distinguir se a melhora do desempenho nos ratos suplementados foi atribuída à suplementação crônica (cinco semanas) ou aguda (realizada no dia do teste de esforço), uma vez que ambos os modelos de suplementação foram empregados. Por fim, é importante salientar que os resultados encontrados em modelos animais devem ser interpretados com cautela, uma vez que os efeitos dos estímulos nutricionais parecem diferir substancialmente entre espécies (ALVES et al., no prelo; NICASTRO et al., 2011). Assim, estudos com humanos fazem-se necessários para comprovar tais achados pré-clínicos. De fato, os poucos estudos encontrados na literatura que suplementaram ASP ou ASN, associados ou não a outros compostos, ainda são contraditórios e apresentam importante falhas metodológicas (DENIS et al., 1991; AHLBORG; EKELUND; NILSSON, 1968; MAUGHAN; SADLER, 1983;

CONSOLANZIO et al., 1963; HAGAN et al., 1982; COLOMBANI et al., 1999; ABEL et al., 2005; TUTTLE et al., 1995; DE HAAN; VAN DOORN; WESTRA, 1985; WESSON et al., 1988; PARISI et al., 2007), reforçando a necessidade de explorar mais a fundo os efeitos ergogênicos desses aminoácidos.

Em suma, este estudo demonstrou que a suplementação com ASP e ASN melhorou o desempenho físico aeróbio em ratos previamente treinados. Assim, para comprovar o potencial efeito ergogênico desses aminoácidos, novos desenhos experimentais envolvendo seres humanos fazem-se necessários. Em adição, entender melhor o mecanismo pelo qual a *performance* está aumentada é de grande relevância científica.

ASPARTATE AND ASPARAGINE AMINO ACIDS SUPPLEMENTATION INCREASES THE AEROBIC PHYSICAL PERFORMANCE IN TRAINED RATS

Abstract: The aim of this article is to evaluate the effects of aspartate (ASP) and asparagine (ASN) supplementation in aerobic exercise performance in trained rats. There were two experimental groups: 1. placebo (PI, n = 07); and 2. treated with ASP and ASN (ASN + ASP; n = 07). Both groups were submitted to aerobic training (4x/week) and treated daily with their supplements. After 5 weeks of intervention, the animals were submitted into a maximal physical test and euthanized to measure muscle glycogen. The time to exhaustion in ASP + ASN group was higher compared with the PI group (42.3 ± 7.6 versus 30.8 ± 7.8 min, $p = 0.02$). There was no difference between groups for muscle glycogen content ($p = 0.22$). The ASP and ASN supplementation improved aerobic performance in trained rats.

Keywords: nutritional supplementation; amino acids; aerobic performance.

REFERÊNCIAS

ABEL, T. et al. Influence of chronic supplementation of arginine aspartate in endurance athletes on performance and substrate metabolism – a randomized, double-blind, placebo-controlled study. **International Journal of Sports Medicine**, v. 26, n. 5 p. 344-349, 2005.

AHLBORG, B.; EKELUND, L. G.; NILSSON, C. G. Effect of potassium-magnesium-aspartate on the capacity for prolonged exercise in man. **Acta Physiologica Scandinavica**, v. 74, p. 238-245, 1968.

ALVES, C. R. R. et al. No effect of creatine supplementation on oxidative stress and cardiovascular parameters in spontaneously hypertensive rats. **J Int Soc Sports Nutr.** No prelo.

BURKE, L. M. et al. Carbohydrates for training and competition. **Journal of Sports Science**, v. 29, sup. 1, p. 17-27, 2011.

CHAMPE, P. C.; HARVEY, R. A.; FERRIER, D. R. **Bioquímica ilustrada.** 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2009.

COLOMBANI, P. C. et al. Chronic arginine aspartate supplementation in runners reduces total Plasma amino acid level at rest and during a marathon run. **European Journal of Nutrition**, v. 38, n. 6, p. 263-270, 1999.

CONSOLAZIO, C. F. et al. Effects of aspartic acid salts (Mg and K) on physical performance of men. **Journal of Applied Physiology**, v. 19, p. 257-261, 1964.

DE HAAN, A.; VAN DOORN, J. E.; WESTRA, H. G. Effects of potassium + magnesium aspartate on muscle metabolism and force development during short intensive static exercise. **International Journal of Sports Medicine**, v. 6, n. 1, p. 44-49, 1985.

DENIS, C. et al. Effect of arginine aspartate on the exercise-induced hyperammonemia in humans: a two periods cross-over trial. **Arch Int Physiol Biochim Biophys**, v. 99, n. 1, p. 123-127, 1991.

HAGAN, R. D. et al. Absence of effect of potassium-magnesium aspartate on physiologic responses to prolonged work in aerobically trained men. **International Journal of Sports Medicine**, v. 3, n. 3, p. 177-181, 1982.

HASSID, W. Z.; ABRAHAMS, S. Chemical procedures for analyses of polisaccharides. **Methods enzimol**, v. 3, p. 34-51, 1957.

HUE, L.; TAEGTMEYER, H. The Randle cycle revisited: a new head for an old hat. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, v. 297, p. E578-E591, 2009.

JEUKENDRUP, A. E. Carbohydrate and exercise performance: the role of multiple transportable carbohydrates. **Current Opinion Clinical Nutrition Metabolic Care**, v. 13, n. 4, p. 452-457, 2010.

JEUKENDRUP, A. E. Nutrition for endurance sports: marathon, triathlon, and road cycling. **Journal of Sports and Science**, v. 29, sup. 1, p. 91-99, 2011.

LANCHA, JR. A. H. et al. Effect of aspartate, asparagine and carnitine supplementation in the diet on metabolism of skeletal muscle during a moderate exercise. **Physiology and Behavior**, v. 57, n. 2, p. 367-371, 1995.

MARQUEZI, M. L. et al. Effect of aspartate and asparagine supplementation on fatigue determinants in intense exercise. **International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism**, v. 13, p. 65-75, 2003.

MAUGHAN, R. J.; SADLER, D. J. The effects of oral administration of salts of aspartic acid on the metabolic response to prolonged exhausting exercise in man. **International Journal of Sports Medicine**, v. 4, n. 2, p. 119-123, 1983.

NICASTRO, H. et al. Effects of creatine supplementation on muscle wasting and glucose homeostasis in rats treated with dexamethasone. **Amino Acids**, v. 42, n. 5, p. 1.695-1.701, 2011.

OHIRA, Y. et al. Induction of an increase in mitochondrial matrix enzymes in muscle of iron-deficient rats. **American journal of physiology**, v. 22, p. 639-644, 1987.

PARISI, A. et al. Do aspartate and asparagine supplementation influence the onset of fatigue in intense exercise? **The Journal of Sports Medicine and Physical Fitness**, v. 47, p. 422-426, 2007.

PHILLIPS, S. M. et al. Carbohydrate gel ingestion significantly improves the intermittent endurance capacity, but not sprint performance, of adolescent team games Players during a simulated team games protocol. **European Journal of Applied Physiology**, v. 112, n. 3, p. 1.133-1.141, 2011.

RANDLE, P. J. et al. The glucose fatty-acid cycle. Its role in insulin sensitivity and the metabolic disturbances of diabetes mellitus. **Lancet**, v. 1, p. 785-789, 1963.

TRUDEAU, F. Aspartate as an ergogenic supplement. **Sports Medicine**, v. 38, n. 1, p. 9-16, 2008.

TRUDEAU, F.; MURPHY, R. Effects of potassium-aspartate salt administration on glycogen use in the rat during a swimming stress. **Physiology and Behavior**, v. 54, n. 1, p. 7-12, 1993.

TUTTLE, J. L. et al. Effect of acute potassium-magnesium aspartate supplementation on ammonia concentrations during and after resistance training. **International Journal of Sport Nutrition**, v. 5, n. 2, p. 102-109, 1995.

WESSON, M. et al. Effects of oral administration of aspartic acids salts on the endurance capacity of trained athletes. **Respiration Quarterly Exercise and Sport**, v. 59, n. 3, p. 234-239, 1988.

Contato

Antonio Herbert Lancha Junior
E-mail: lanchajr@usp.br

Tramitação

Recebido em 23 de dezembro de 2011
Aceito em 20 de junho de 2012