

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BÁSICAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS: FISILOGIA

**EFEITOS DO EXERCÍCIO INTERMITENTE DE ALTA INTENSIDADE E DA  
SUPLEMENTAÇÃO ALIMENTAR COM CARBOIDRATOS NO METABOLISMO DE  
GLICÍDIOS EM RATOS TREINADOS**

**VIVIAN TREICHEL GIESEL**

Orientador: Prof. Dr. Edison Capp

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Fisiologia, UFRGS, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas: Fisiologia.

Porto Alegre, julho de 2006

## **AGRADECIMENTOS**

Ao meu orientador, Prof. Edison Capp, pelo estímulo, orientação e compreensão.

Ao meu marido Helenilton pelo carinho diário e por ser sempre a pessoa certa em minha vida.

À minha mãe e padrasto pelo imenso carinho e por serem eternamente especiais.

À minha querida irmã Helen Treichel, meu cunhado Altemir Mossi e à Luiza pelo carinho proporcionado.

À Celmira Maria Rabassa Giesel e Enilton Einhardt Giesel pelo carinho e compreensão.

Às amigas Samanta e Débora por suas grandes amizades e por serem incondicionalmente confortantes em todos os momentos.

À Lolita Schneider por sua grande amizade e colaboração.

À profa Ilma Simoni Brum da Silva, por sua compreensão, serenidade e apoio.

À professora Matilde pelo apoio metodológico e didático, bem como todas as pessoas de seu laboratório, em especial Jocemar e Taís.

Ao professor Airton José Rombaldi pela colaboração metodológica e pelos conhecimentos transmitidos com tanta clareza.

À Débora e Idelma por serem companhias especiais e pelos auxílios constantes.

À Rosana e Vanderlei por toda a colaboração que prestaram.

Aos incansáveis Mateus Reche e Lucas Araújo, pela imensa colaboração incondicional em todos os momentos do trabalho.

Aos funcionários do Biotério da UFRGS por trabalharem precisamente em função dos objetivos do experimento.

## SUMÁRIO

INTRODUÇÃO .....	5
1 FATORES CONDICIONANTES DO EXERCÍCIO INTERMITENTE.....	8
2 CAPTAÇÃO E METABOLISMO DA GLICOSE .....	11
3 PRODUÇÃO E LIBERAÇÃO DO LACTATO .....	14
4 INTERAÇÃO ENTRE O METABOLISMO DA GLICOSE E DE LIPÍDEOS.....	16
5 REGULAÇÃO HORMONAL NO EXERCÍCIO FÍSICO .....	18
5.1 Insulina .....	18
5.2 Glucagon .....	20
5.3 Catecolaminas (adrenalina e noradrenalina) .....	20
5.4 Cortisol.....	21
6 SUPLEMENTAÇÃO DE GLICÍDIOS .....	22
7 ALTERAÇÕES HORMONAIS PROVOCADAS PELA SUPLEMENTAÇÃO DE GLICOSE .....	27
OBJETIVOS .....	30
Geral .....	30
Específicos .....	30
REFERÊNCIAS.....	31
ARTIGO EM PORTUGUÊS.....	46
ARTIGO EM INGLÊS .....	79

## INTRODUÇÃO

O exercício físico envolve grande consumo de ATP, cuja magnitude depende da intensidade do esforço a ser realizado (1-3). Os músculos esqueléticos possuem sistemas de produção de energia muito eficientes e que possibilitam a síntese de moléculas de ATP que serão gastas na contração muscular (4). Entre estes sistemas estão a fosfocreatina, a glicólise, o ciclo de Krebs e a cadeia de transporte de elétrons. Além disto, quanto maior a intensidade do exercício, maior a oxidação de glicose como substrato energético (5).

O exercício intermitente é, entre os tipos de exercício conhecidos, aquele que mais rapidamente varia a rota metabólica para fornecimento de energia. Este tipo de exercício intercala períodos de esforço intenso com períodos de recuperação. É importante considerar que, após este intervalo (recuperação), as rotas metabólicas responsáveis pela produção de energia estão parcialmente recuperadas e, ao iniciar novo esforço, um novo ciclo se inicia (6, 7). Trata-se também da forma de trabalho muscular predominante na grande maioria dos clubes e Academias, bem como nos esportes coletivos.

O treinamento físico induz adaptações no músculo esquelético como o aumento no conteúdo muscular de GLUT4 (8-11), na atividade da enzima hexoquinase (12, 13), na atividade dos receptores hormonais de insulina (14),

glucagon (15), adrenalina (16) e Hormônio do Crescimento (GH) (4). Além disso, o treinamento propicia a captação de glicose induzida pela contração muscular, através de mecanismos semelhantes àqueles da ativação dos receptores insulínicos (17). Assim, o treinamento melhora a capacidade de captação de glicose pela musculatura esquelética (18, 19).

A utilização da glicose é decisiva durante o exercício, principalmente para o metabolismo energético em altas cargas de trabalho (20-23). Contudo, a diminuição de intensidade do exercício para baixa ou moderada faz com que o organismo utilize prioritariamente lipídeos como substrato energético (24-26). Por ter o exercício intermitente a característica de intercalar intensidades altas e baixas, diferentes substratos são nele utilizados como fonte de energia (27-30). Por ser a glicose um conhecido ativador metabólico do metabolismo dos ácidos graxos (31), sua presença em concentrações normais é essencial para o prosseguimento deste tipo de exercício.

Mesmo na ausência de ingesta alimentar concomitante, os músculos durante a recuperação de um exercício físico têm a capacidade de refazer parte de seus estoques de glicogênio (32). Este dado, denota a importância da manutenção das concentrações de glicogênio intramusculares como forma de garantir níveis de glicose dentro de padrões suficientes para suprir a glicólise em uma nova sessão de exercício. Sob estas condições, o lactato é a fonte mais provável para a síntese de glicogênio (33). Isto se dá tanto diretamente através da conversão deste ânion em ânion piruvato pelas fibras musculares tipo I (34) e coração (35) quanto indiretamente via conversão em glicose no fígado através do Ciclo de Cori (36, 37).

Esta síntese de glicogênio muscular a partir de fontes de carbono endógenas tem sido demonstrada não somente em humanos e ratos (32), mas também em outros animais incluindo peixes (38-40) e anfíbios (41, 42).

O fígado é o único órgão capaz de liberar para a corrente sanguínea a glicose produzida e/ou armazenada, por possuir a enzima glicose fosfatase (43). Foi demonstrado um paralelo entre a diminuição dos níveis de conteúdo de glicogênio hepático e algumas das respostas metabólicas ao exercício (44-47). A redução do glicogênio muscular associado a uma redução de glicogênio hepático limita a contribuição da glicólise na produção de energia. Isto ocorre inclusive em exercícios de intensidade moderada nos quais o metabolismo é essencialmente aeróbio, pois à glicose cabe também a função de ativador metabólico do metabolismo dos lipídios (48).

A suplementação com carboidratos durante a realização de exercícios de característica intermitente é uma prática que se mostra auxiliar na prevenção de quedas na glicemia (49). Por ser esta a forma de exercício cuja prática é mais difundida, tanto no esporte de alto nível quanto nos exercícios praticados regularmente por pessoas ativas, torna-se necessário investigar a administração oral de carboidratos como forma de melhoria na performance. Além disso, é de suma importância a verificação dos efeitos desta suplementação na economia das reservas endógenas de glicose para aprimorar as rotas metabólicas das quais esta faz parte.

## **1 FATORES CONDICIONANTES DO EXERCÍCIO INTERMITENTE**

O exercício físico contínuo e de intensidade moderada, caracteriza-se pela manutenção das rotas aeróbias sempre funcionais (45), com captação de Oxigênio em concentrações adequadas. Além disso, este tipo de exercício utiliza como substrato energético predominante os ácidos graxos provenientes dos adipócitos (50). A disponibilização deste substrato se dá através da lipólise e suas reservas endógenas são suficientes para diversas horas de trabalho muscular consecutivo (51).

O exercício intermitente intercala períodos de exercício físico de alta intensidade com outros de menor intensidade e/ou descanso (52). Os estoques de glicogênio presentes no organismo humano, quando plenos, são suficientes para pouco mais de uma hora de esforço de intensidade média a alta (53), a qual caracteriza o exercício intermitente. Desta forma, os músculos dependem também de uma apropriada captação de glicose circulante para que a contração seja possível (54, 55). Para tanto, é necessário que a glicemia seja mantida em níveis adequados para que a glicose seja utilizada nas rotas metabólicas do organismo em exercício. Além disso, concentrações elevadas de glicose precisam ser utilizadas em outros tecidos orgânicos, principalmente o cérebro, cujo metabolismo é dependente de glicose para o funcionamento normal (56). Em exercícios prolongados, foram



demonstrados valores de glicemia muito baixos que contribuem para levar o indivíduo à exaustão (6).

Os picos de alta intensidade do exercício físico intermitente tem como característica a predominância de rotas metabólicas anaeróbias, com grande déficit de oxigênio (6). A recuperação de um exercício extenuante é baseada nas fontes aeróbias (57, 58). Embora ácidos graxos (AG) contribuam para esta recuperação, parte da energia é derivada da oxidação de glicose (48), e parte da oxidação do lactato produzido no metabolismo anaeróbio láctico. Sem os esqueletos de carbono provenientes destes, a atividade do ciclo de Krebs ficaria reduzida e por falta de formação de oxaloacetato a produção de ATP diminuiria e ocorreria fadiga muscular.

Embora faltem evidências diretas, tem sido sugerido que a capacidade de absorção da glicose no intestino é um fator limitante para a oxidação da glicose ingerida (21, 59).

O glicogênio armazenado nos músculos constitui apenas uma fração do total de substratos de energia armazenado no organismo e pode ser reduzido durante picos de exercício intenso (53, 60). O aperfeiçoamento na capacidade oxidativa parece estar associado à quantidade de glicogênio armazenada dado que a depleção dos estoques de glicogênio é fator limitante em exercícios físicos de alta intensidade (45, 61). Estes aspectos reforçam a necessidade de uma fonte exógena de glicose durante o exercício para evitar fadiga muscular e proporcionar melhor desempenho.

Exercícios de alta intensidade causam mudanças no volume dos fluidos e íons no músculo esquelético, as quais podem prejudicar o desempenho muscular

(62-64). Durante o exercício intenso, a água e os íons  $\text{Na}^+$  e  $\text{Cl}^-$  são transportados do plasma para o músculo em exercício, enquanto o  $\text{K}^+$  e o lactato saem do músculo em contração (65-67). A contribuição desses fluidos e das trocas iônicas para a fadiga muscular durante o exercício é complexa, pois participam dos mecanismos de despolarização celular, contração muscular e armazenamento de nutrientes. Para prevenir tais mudanças, a ingestão de fluidos carboidratados eletrolíticos também se mostra eficiente (68).

## 2 CAPTAÇÃO E METABOLISMO DA GLICOSE

No decorrer da prática de exercícios físicos, as alterações hormonais geram alterações nos níveis séricos de substratos disponíveis para utilização como fontes energéticas. Em repouso, é de 85 mg/min o “turnover” da glicose sangüínea (17, 69, 70). O sistema nervoso central tem, em média, 3% da massa corporal, mas exige aproximadamente 60% da produção hepática de glicose no repouso (17). A musculatura esquelética (71, 72), a qual representa 40 a 60% da massa corporal total, utiliza quantidade relativamente pequena de glicose sangüínea (20-30% do “turnover” total de glicose). De modo semelhante, quando estimulada por altas concentrações de insulina (73-77), hiperglicemia (5, 78) ou exercício físico (79-81), a captação de glicose é rapidamente acelerada na musculatura esquelética. Em repouso, esta captação associada ao aumento na liberação de insulina propicia a síntese de glicogênio. A glicemia elevada estimula secreção de maiores quantidades de insulina (82, 83), a qual, por sua vez, estimula o aumento na síntese de glicogênio. O glicogênio é um polímero de glicose com função de armazenamento (fonte de carbono) (84). Nos mamíferos os maiores depósitos de glicogênio em quantidades absolutas são o músculo esquelético e o fígado, embora outras células sejam capazes de produzi-lo (músculo liso, coração e rim) (84). A polimerização básica no glicogênio é via ligações alfa 1,4 glicosídicas com pontos de ramificação ocorrendo nas ligações alfa 1,6 (43, 84).

A biossíntese do glicogênio inicia com a entrada da glicose na célula via transporte passivo mediado por transportadores especializados, transportadores de glicose (GLUTs) (84). O músculo e outros tecidos periféricos, inclusive o tecido adiposo, expressam predominantemente a isoforma GLUT4, que é armazenada em vesículas citoplasmáticas e translocada para membrana em resposta á insulina ou contração muscular (43, 82).

A etapa inicial da síntese ocorre através da proteína glicogenina que forma a cadeia inicial de oligossacarídeos. A glicogênio sintase, membro da família das glicositransferases, catalisa então a formação das ligações glicosídicas alfa-1,4 do glicogênio usando a UDP-glicose como doador (84). Esta enzima tem seu controle através de fosforilação covalente reversível. A degradação do glicogênio ocorre em períodos de hipoglicemia e por estimulação pelo hormônio glucagon. A enzima glicogênio fosforilase catalisa a fosforilação das ligações alfa -1,4 glicosídicas liberando glicose-1-fosfato e uma cadeia mais curta de glicogênio como produtos. Nos pontos de ramificação do glicogênio a enzima fosforilase necessita também da enzima alfa-1,6 desramificadora (43). Assim como a glicogênio sintase, a fosforilase é regulada pelos sítios de ligação e fosforilação. A enzima desramificadora tem duas atividades catalíticas (glicotransferase e glicosidase) associadas com diferentes domínios em um único polipeptídio, sendo uma delas (transferase) responsável pelo deslocamento dos resíduos terminais de uma ramificação e sua ligação a um carbono terminal de outra cadeia cadeia. Já a glicosidase remove a glicose da ligação alfa 1,6 na cadeia, liberando a glicose que é imediatamente fosforilada pela enzima hexoquinase (84).

A elevação na captação de glicose da circulação sanguínea em resposta ao exercício físico foi demonstrada em humanos saudáveis (69, 72, 85-87), cães (75) e ratos (88-91). Este aumento na captação da glicose é diretamente dependente da intensidade do exercício e da sua duração (85-87, 92, 93), embora seja independente das concentrações de insulina. Durante o exercício, a concentração de insulina plasmática diminui (46, 94). Esta diminuição parece estar associada à liberação do hormônio adrenalina pela glândula adrenal que é uma característica do exercício físico (95). O aumento na captação de glicose durante atividade física parece envolver outros fatores que não apenas a interação insulina-receptor (96-99).

### 3 PRODUÇÃO E LIBERAÇÃO DO LACTATO

Durante o exercício ocorre aumento na produção de lactato no músculo esquelético proporcional à intensidade do mesmo (100, 101). Esta produção ocorre sempre que as rotas anaeróbias lácticas estiverem funcionais. À medida que a intensidade do exercício se eleva a produção de lactato vai ultrapassando a capacidade de oxidação do mesmo e suas concentrações se elevam (102). Embora tenha sua produção como metabólito de uma via energética, o lactato é um substrato energético de grande valor oxidativo. Sua molécula de três carbonos é utilizada diretamente nas fibras tipo I (103) e coração (35) via conversão em piruvato. Além disto, o lactato é convertido no fígado, via Ciclo de Cori em novas moléculas de glicose prontamente oxidáveis (43). O transporte do lactato do citosol para o meio extracelular é feito por meio de transportadores monocarboxílicos (MCTs), os quais possuem característica de co-transportadores lactato- $H^+$  (34, 100). Este modelo de transporte permite a retirada de prótons ( $H^+$ ) e lactato do músculo. Os prótons têm como característica a diminuição do pH orgânico (104). Estes íons causam também desnaturação protéica e são agentes competitivos com o cálcio no sítio de ligação da troponina C, dificultando deste modo a contração muscular. Sendo assim, sua liberação no sangue facilita o tamponamento (105). O lactato, por sua função energética, ao ser liberado no sangue torna possível sua reutilização em outros tecidos (105). No fígado o lactato participa da gliconeogênese (106, 107).

Embora se trate de um substrato de energia, o lactato tem sua produção e liberação diretamente proporcional à quantidade de prótons de hidrogênio que estão presentes na célula e no plasma (102, 108).

Durante alguns tipos de exercício o “turnover” do lactato pode exceder o da glicose (107), e a velocidade de oxidação do lactato pode representar quase um terço da oxidação total de carboidratos (4). O metabolismo aumentado deste substrato acaba por gerar efeitos no metabolismo da glicose em exercício. No entanto, embora o papel do lactato e da glicose como substratos de energia seja bem conhecido, as interações entre o lactato e a glicose ainda necessitam ser mais exploradas.

#### **4 INTERAÇÃO ENTRE O METABOLISMO DA GLICOSE E DE LIPÍDEOS**

Diversos estudos demonstraram estreitas relações entre as concentrações de glicose e glicogênio e uma variedade de respostas metabólicas ao exercício físico (44-47). No repouso e em exercícios de intensidade moderada há uma elevada oxidação de ácidos graxos (50). Em intensidades elevadas há uma priorização das rotas metabólicas anaeróbias tendo a glicose como substrato preferencial (7). O progresso na redução do glicogênio muscular associado a uma conseqüente redução hepática do mesmo limita a contribuição da glicólise na produção de energia (109). No entanto, isto ocorre inclusive em exercícios de intensidade moderada nos quais o metabolismo é essencialmente aeróbio (110). A glicose, além de ser o substrato de energia preferencial em exercícios de intensidade elevada, parece participar também como ativador metabólico no metabolismo dos lipídios (48). Após a lipólise, os ácidos graxos são transportados até os tecidos periféricos associados à proteína albumina. Nestes tecidos, ocorre a entrada dos ácidos graxos no citoplasma por difusão e o transporte destes via carnitina acil-transferase (CAT) até o interior das mitocôndrias. Na última, estas longas cadeias carbônicas passam por um processo de beta oxidação para sua entrada como acetil-coa no ciclo de Krebs (43). Tendo como substrato preferencial os ácidos graxos, começa a haver uma produção exacerbada de moléculas de ATP (adenosina trifosfato) nesta via metabólica e, por inibição alostérica, estes ATPs causam uma inativação do



complexo enzimático piruvato desidrogenase. A formação de acetil-CoA é então proveniente exclusivamente dos ácidos graxos. Ocorre a seguir, uma conseqüente ativação da piruvato carboxilase, enzima que converte piruvato proveniente da glicólise em oxaloacetato. Este último metabólito condensa-se ao acetil-CoA e forma citrato, pela ação da citrato sintase, facilitando a oxidação do acetil-coA no ciclo de Krebs (31).

As principais limitações para maior utilização de AG no exercício de intensidade moderada e de longa duração são a disponibilidade de glicogênio e/ou glicose para o fornecimento de intermediários do ciclo de Krebs (111) e a mobilização de AG do tecido adiposo e do músculo esquelético (50). Isto torna fundamental a suplementação de glicídios como fonte energética prontamente oxidável para a manutenção da oxidação de lipídeos, dos estoques de glicogênio corporais e o conseqüente desempenho físico dentro de níveis esperados (112).

## **5 REGULAÇÃO HORMONAL NO EXERCÍCIO FÍSICO**

O exercício promove diversas respostas do sistema endócrino (113). Os mais importantes modificadores destas respostas parecem ser resultantes do treinamento: a individualidade dos limiares de intensidade, a duração do exercício necessária para produzir a resposta, o nível de adaptação do organismo ao exercício e a capacidade funcional aumentada do sistema endócrino (114, 115). Além destes, a motivação individual, condições ambientais e a dieta também têm função importante nesta regulação (116-118). Alguns hormônios como a insulina, glucagon, catecolaminas e cortisol participam diretamente destas alterações. Alterações endócrinas em indivíduos treinados são direcionadas para poupar ao máximo os substratos e obter destes o máximo de energia (119).

### **5.1 Insulina**

A insulina é um hormônio peptídico secretado pelas células  $\beta$  do pâncreas, liberado por vários estímulos como níveis de glicose, aminoácidos, glucagon entre outros (120). A insulina tem sua ação a partir da ligação com seu receptor localizado na membrana plasmática transmitindo o sinal intracelular que resulta na resposta biológica (14). O receptor de insulina tem quatro subunidades, duas subunidades  $\alpha$  com 135 KDa cada contendo domínios de ligação para insulina e duas subunidades

$\beta$  com 95 KDa cada e atividade tirosina quinase. A região justamembrana da subunidade  $\beta$  contém vários resíduos de tirosina envolvidos na transdução do sinal (121), bem como, na fosforilação do IRS-1 (Substrato 1 do Receptor de Insulina) (14).

A ligação da insulina gera uma mudança conformacional no receptor permitindo a fosforilação de domínios de tirosina e a conseqüente fosforilação dos IRS. Até hoje, quatro proteínas IRS foram identificadas (IRS-1 ao IRS-4). Enquanto consideráveis evidências são descritas para o IRS-1 e IRS-2 nas ações metabólicas da insulina, o papel do IRS-3 e do IRS-4 é pouco claro. O IRS-4 não é encontrado no músculo e nem nos adipócitos e o IRS-3 no adipócito não parece fosforilar níveis significativos de IP3K (fosfatidilinositol 3-Kinase) enzima que catalisa a fosforilação de PI (grupos fosfato inositol) que desencadeiam ações intracelulares (122). O IRS fosforilado pode ativar várias proteínas de sinalização como  $PI_3$  quinase e  $GRb_2$  mediadores que estão envolvidos com a captação de glicose, síntese de glicogênio e expressão gênica (123). Em tecidos-alvo, músculo esquelético e adiposo, a insulina regula a translocação do transportador de glicose (GLUT 4) para a membrana plasmática (124-126), para que ocorra a captação de glicose. As células cerebrais e os eritrócitos são independentes da insulina para captar glicose (127).

A concentração de insulina durante o exercício físico tem padrão definido, com tendência a ficar inalterada ou reduzida (46, 128-132). Mesmo exercícios de intensidade moderada, tendem a causar diminuição nos níveis sanguíneos de insulina (132, 133). Esta diminuição parece estar associada a maior liberação do hormônio adrenalina, o qual diminui a secreção pancreática de insulina.

## 5.2 Glucagon

O glucagon é secretado pelas células  $\alpha$  do pâncreas (134-137). Este hormônio estimula a gliconeogênese hepática e a lipólise. Sua secreção é estimulada por glicemia e insulinemia baixas (138).

O glucagon também responde ao treinamento inalterando ou aumentando levemente sua concentração no sangue, o que parece indicar uma maior sensibilidade a este induzida pelo treinamento. Como os níveis sanguíneos de glucagon aumentam de forma moderada na medida em que diminuem a glicemia e a insulinemia durante exercício prolongado, esta resposta aumentada do glucagon auxilia na manutenção da homeostase da glicose, de modo que a gliconeogênese é acelerada durante o exercício prolongado. Por outro lado, o exercício máximo de curta duração causa pequena ou nenhuma mudança na concentração sanguínea de glucagon (139-141).

No entanto, parece não haver maiores mudanças na glicose sanguínea induzidas pelo treinamento que estejam relacionadas à redução do glucagon ao exercício (142).

## 5.3 Catecolaminas (adrenalina e noradrenalina)

A adrenalina e a noradrenalina são liberadas pela glândula adrenal em situações de estresse como, por exemplo, o exercício. Tal secreção ocorre no intuito de mobilizar reservas de substratos energéticos e preparar o organismo para as rápidas reações necessárias nestes estados metabólicos (95, 143, 144). As

catecolaminas estimulam a glicogenólise em tecido hepático e muscular e a gliconeogênese hepática, todos processos para tornar o organismo suprido com elevadas concentrações de substratos energéticos disponíveis (95).

#### **5.4 Cortisol**

O cortisol é um glicocorticóide produzido no córtex da glândula adrenal que tem como principal fator de liberação o estresse (145-147). Por ser o exercício uma forma de estresse, o cortisol participa deste estado metabólico de duas formas: inibindo a síntese protéica de novo e liberando aminoácidos para a utilização como substrato energético.

A manutenção de glicemia normal age como um mecanismo de prevenção da liberação do hormônio glicocorticóide cortisol (148-151). O cortisol atua sobre todas as enzimas da gliconeogênese. Ao mesmo tempo induz a ativação de enzimas de degradação de aminoácidos que levam a formação de precursores da gliconeogênese. Para prevenir esta degradação protéica provocada pelo cortisol há necessidade da glicose sanguínea ser mantida dentro de níveis fisiológicos, principalmente durante exercício físico intenso ou prolongado (152). Este tipo de exercício físico se caracteriza por um aumento da captação da glicose sanguínea pelas células. No intuito de manter os níveis de glicose sanguínea (153) lactato, glicerol e alguns aminoácidos são convertidos em glicose pela gliconeogênese no fígado (154-156).

## 6 SUPLEMENTAÇÃO DE GLICÍDIOS

A ingestão de carboidratos antes ou durante exercício prolongado parece melhorar o desempenho de atletas. Isto poderia ser devido à manutenção de uma velocidade alta de oxidação de carboidratos. A glicose sangüínea e sua forma armazenada no músculo, o glicogênio, são necessárias para a manutenção da atividade muscular e evitam a utilização de substratos não-glicídicos através da gliconeogênese no fígado (154).

A ingestão de carboidratos tem um papel significativo no desempenho em exercícios de endurance, trabalho de força muscular e diversos *sprints* consecutivos (49, 157-160). Sua inclusão no dia-a-dia dos atletas é essencial para um melhor desempenho e para minimizar o risco de fadiga muscular crônica. A falta de reserva de glicogênio muscular pode ser fator limitante em exercícios de longa duração.

As reservas de glicogênio hepático aumentam depois das refeições, mas diminuem nos intervalos, especialmente durante a noite, em função de o fígado liberar glicose para a corrente sangüínea com o objetivo de manter normal o nível sangüíneo de glicose (53, 60). A utilização da glicose durante o exercício causa diminuição da glicemia e utilização do glicogênio hepático.

A ingestão de carboidratos reduz a glicogenólise hepática, aumenta a glicose sangüínea e a captação e oxidação de glicose pelo músculo. Estudos mostram que

a captação e oxidação de glicose sérica pelo músculo reduzirão a velocidade de degradação do glicogênio muscular para a produção de energia, diminuirão o catabolismo das proteínas, retardarão a fadiga e aumentarão o desempenho (32, 53, 60, 161). Desta forma, a utilização de glicose da circulação sanguínea pode compensar ou evitar o declínio das concentrações de glicogênio muscular quando em exercício intenso e, pela manutenção da glicemia reduzir a degradação do glicogênio hepático (53, 80, 162). Foi demonstrado que a ingestão de fluidos carboidrolíticos durante o exercício prolongado pode prevenir a desidratação e atenuar os efeitos sobre função cardiovascular e no desempenho, além de retardar o aparecimento da fadiga (49, 157-159, 163, 164).

Algumas características dos líquidos carboidratados precisam ser consideradas para permitir a melhor utilização da glicose neles contida. Após a entrada dos nutrientes no intestino delgado, fatores que determinam o aparecimento da glicose na circulação porta potencialmente incluem a quebra dos carboidratos complexos em glicose, absorção da glicose pela mucosa intestinal, padrões motores do intestino delgado e fluxo sanguíneo esplâncnico (165).

Os polissacarídeos são degradados em oligossacarídeos e monossacarídeos pelas enzimas da borda em escova e borda luminal antes da absorção. A hiperglicemia aumenta a atividade das dissacaridases, isto tem implicações potenciais para absorção de glicose em pacientes diabéticos (166). Níveis elevados de insulina aumentam a absorção intestinal de glicose (167-169), enquanto aumentados níveis de glucagon diminuem sua absorção (170).

A absorção de glicose através dos enterócitos ocorre predominantemente no intestino delgado proximal, via co-transportador glicose-sódio (SGLT1) na membrana luminal e os GLUT2 na membrana basolateral (171, 172). Os remanescentes 10% da absorção intestinal de glicose são de forma paracelular com difusão através da parede intestinal (173). Uma regulação para cima na membrana luminal (*up-regulation*) através do aumento no transporte de glicose ocorre em resposta a modificações na dieta. Um aumento no número ou atividade dos carreadores na membrana basolateral parece ser responsável pela aumentada captação observada durante a hiperglicemia.

O impacto dos padrões motores do intestino delgado na absorção intestinal parece ser importante, no entanto, pouco se sabe sobre o assunto. O aparecimento da glicose na circulação sistêmica também parece ser influenciado pelo fluxo sanguíneo mesentérico superior, sendo este influenciado pela composição da refeição (174). O estímulo adrenérgico do intestino delgado resulta em aumento na absorção intestinal de glicose. Outros hormônios estudados mostram relação com a absorção intestinal de glicose como o IGF-1, IGF-2, EGF por terem seus receptores já descritos nos enterócitos (175). A gastrina, enteroglucagon, PYY também participam desta regulação (176).

O exercício é caracterizado por alterações nos níveis de hormônios circulantes, os quais resultam em produção aumentada de glicose para corresponder às demandas energéticas corporais elevadas (59). Durante o exercício prolongado, o glucagon aumenta enquanto a insulina diminui. Além disto, a elevação nas concentrações de glicocorticóides durante o exercício poderia também levar a um



aumento na absorção intestinal de glicose (172). O impacto do exercício no fluxo sanguíneo esplâncnico poderia potencialmente levar a alterações na absorção intestinal em exercício, sendo assim pequenas mudanças na microcirculação dos vasos que perfundem o intestino poderiam facilitar a absorção de glicose (177).

Por todas estas razões algumas características já descritas como facilitadoras do esvaziamento gástrico e promotoras de uma melhor absorção intestinal dos monossacarídeos precisam ser consideradas. Os fluidos carboeletrolíticos devem ser ingeridos gelados e em concentrações condizentes com o índice glicêmico dos mesmos (178). O índice glicêmico diz respeito à velocidade com que a glicose alcança a corrente sanguínea após sua ingestão (179). É importante considerar que quanto maior o índice glicêmico menores as concentrações aceitáveis para permitir uma melhor absorção. A quantidade de carboidratos ingerida não deve ser em volume muito grande pelo risco de retardar o esvaziamento gástrico (21, 59, 177). As fontes de carboidratos para serem usadas devem ser facilmente digeríveis e absorvíveis. Neste sentido, mais eficientes são as fontes solúveis de que podem ser ingeridas com líquido e que mais depressa estão disponíveis na circulação (49, 157-159). Líquidos são mais fáceis de ingerir que sólidos durante exercício além de fornecerem, ao mesmo tempo, reposição hídrica. Fontes ótimas de carboidratos são aquelas processadas ou pré-digeridas e com baixas quantidades de fibras dietéticas, tais como:

- monossacarídeos - glicose e frutose;
- dissacarídeos - sacarose e maltose;
- polímeros - maltodextrinas e extrato de malte;

- amido - amido solúvel.

Estes tipos de carboidratos têm a vantagem de serem prontamente dissolvíveis em líquido. De forma geral, estes tipos de carboidratos são igualmente efetivos em aumentar os níveis de glicose sangüínea e a velocidade de oxidação durante o exercício. Uma exceção pode ser a frutose, que por um lado é capaz de manter a glicemia e não influenciar a secreção da insulina, resultando numa inibição mais fraca da mobilização dos ácidos graxos livres que a glicose. Por outro lado, a frutose é mais lentamente absorvida e pode causar distúrbios gastrointestinais quando ingerida em quantidade superior a 30 g/L (59, 180-182). Adicionalmente, a velocidade de oxidação da frutose nos processos de liberação energética é menor, muito provavelmente, em função de maior afinidade da enzima hexoquinase muscular pela glicose (12, 13). Isto torna a frutose menos vantajosa como fonte energética durante exercício.

## **7 ALTERAÇÕES HORMONAIIS PROVOCADAS PELA SUPLEMENTAÇÃO DE GLICOSE**

A produção de glicose durante exercício é fundamentalmente controlada pela interação do glucagon e insulina (183-185), de tal modo que um aumento na relação glucagon/insulina resulta em aumentada liberação de glicose hepática. Por outro lado, a priorização da glicose como substrato é controlada pela intensidade do exercício associada à ação das catecolaminas e insulina (95, 144, 186). Um aumento nas catecolaminas e decréscimo na insulina causa aumento na mobilização da gordura e glicogênio muscular. No entanto, a infusão ou a ingestão de carboidratos imediatamente antes ou durante o exercício modifica o perfil hormonal durante exercício em resposta a esta carga de carboidratos, devido ao aumento da captação de glicose proporcionado pela contração muscular (187). Ocorre aumento da concentração da glicose transportada no sangue, seja infundida diretamente ou absorvida do intestino, e redução da resposta das catecolaminas, glucagon e cortisol (147).

O exercício submáximo prolongado, 2-3 horas, em intensidades até 75% do  $VO_2$  max, quando não suplementado, resulta em concentração sangüínea aumentada de ácido graxos livres, declínio gradual na glicose e aumento na concentração de noradrenalina e cortisol (188). Por outro lado, estudos mostram que a ingestão de um líquido com carboidratos durante o exercício suprime o aumento

do cortisol e da concentração sanguínea de ácido graxos livres, não causam aumento nas concentrações de insulina e, fundamentalmente, aumentam os níveis sanguíneos de glicose (184, 189).

Foi demonstrado aumento da concentração sérica de insulina quando a ingestão foi realizada 30-60 min antes de exercício prolongado (132). Todavia, com o decorrer do exercício sua concentração sanguínea retornou aos valores basais (132). Quando o consumo da bebida ocorreu imediatamente antes de exercício prolongado de padrão contínuo, igualmente foram relatados níveis de insulina mais elevados quando comparados com o experimento placebo. Apesar deste aumento, nesta situação, ocorreram aumentos da glicemia e melhora da performance (190-192), enfatizando a importância da administração destes fluidos imediatamente antes ou durante o exercício.

No exercício contínuo de intensidade mais elevada (maior ou igual a 80 % do  $VO_2$  max) com ingestão de carboidrato os níveis de insulina plasmática basais e após o exercício foram similares em voluntários treinados em endurance e voluntários não treinados, embora tivessem diminuído suas concentrações significativamente durante exercício (132). O glucagon também foi similar durante repouso e não aumentou consideravelmente nos dois grupos (193). A noradrenalina aumentou dez vezes durante exercício em relação ao nível de repouso, mas não houve diferença significativa entre treinados e destreinados. O mesmo ocorreu com a adrenalina, embora o aumento tenha sido apenas cinco vezes durante exercício em relação aos níveis de repouso. No entanto, apesar do comportamento hormonal

similar durante repouso e exercício, os treinados apresentaram menor utilização da glicose plasmática durante exercício (194).

Durante exercício intermitente de intensidade máxima ou supramáxima realizado com suplementação (152) foram demonstrados níveis mais elevados de insulina e glicose sanguíneas quando os sujeitos foram suplementados com carboidratos do que quando utilizaram placebo.

Sob exercício intermitente de intensidade menor (195), relatou-se que os níveis de glucagon e insulina de sujeitos suplementados com carboidratos em concentrações de 5%, 6% e 7,5% não apresentaram diferenças significativas em relação àqueles suplementados com placebo durante exercício (196). A ingestão de carboidratos diminuiu significativamente os níveis de cortisol somente em líquidos glicosilados concentrados a 7,5%, e os níveis de epinefrina e norepinefrina não foram afetados pela suplementação carboidratada (197). Apesar destas investigações, poucos estudos têm procurado pelos efeitos de diferentes estratégias dietéticas na disponibilidade de glicogênio no treinamento.

## OBJETIVOS

### **Geral**

Verificar os efeitos da administração via oral de solução de glicídios (20% de glicose) durante exercício intermitente de alta intensidade sobre a concentração hepática e muscular de glicogênio, e as concentrações séricas de lactato e glicemia em ratos Wistar machos.

### **Específicos**

- Determinar e comparar os níveis séricos de lactato e glicose pré- e pós-experimento com e sem suplementação de glicídios;
- Determinar e comparar as concentrações de glicogênio hepáticas pós-experimento com e sem suplementação de glicídios;
- Determinar e comparar as concentrações de glicogênio musculares pós-experimento com e sem suplementação de glicídios.

## REFERÊNCIAS

1. Chen ZP, Stephens TJ, Murthy S, Canny BJ, Hargreaves M, Witters LA, et al. Effect of exercise intensity on skeletal muscle AMPK signaling in humans. *Diabetes* 2003;52(9):2205-12.
2. Billat VL, Sirvent P, Py G, Koralsztein JP, Mercier J. The concept of maximal lactate steady state: a bridge between biochemistry, physiology and sport science. *Sports Med* 2003;33(6):407-26.
3. Krstrup P, Ferguson RA, Kjaer M, Bangsbo J. ATP and heat production in human skeletal muscle during dynamic exercise: higher efficiency of anaerobic than aerobic ATP resynthesis. *J Physiol* 2003;549(Pt 1):255-69.
4. De Feo P, Di Loreto C, Lucidi P, Murdolo G, Parlanti N, De Cicco A, et al. Metabolic response to exercise. *J Endocrinol Invest* 2003;26(9):851-4.
5. Berger M, Hagg S, Ruderman NB. Glucose metabolism in perfused skeletal muscle. Interaction of insulin and exercise on glucose uptake. *Biochem J* 1975;146(1):231-8.
6. Glaister M. Multiple sprint work: physiological responses, mechanisms of fatigue and the influence of aerobic fitness. *Sports Med* 2005;35(9):757-77.
7. Tabata I, Irisawa K, Kouzaki M, Nishimura K, Ogita F, Miyachi M. Metabolic profile of high intensity intermittent exercises. *Med Sci Sports Exerc* 1997;29(3):390-5.
8. Helge JW, Overgaard K, Damsgaard R, Sorensen K, Andersen JL, Dyrskog SE, et al. Repeated prolonged whole-body low-intensity exercise: effects on insulin sensitivity and limb muscle adaptations. *Metabolism* 2006;55(2):217-23.
9. Holloszy JO. Exercise-induced increase in muscle insulin sensitivity. *J Appl Physiol* 2005;99(1):338-43.
10. Houmard JA, Shinebarger MH, Dolan PL, Leggett-Frazier N, Bruner RK, McCammon MR, et al. Exercise training increases GLUT-4 protein concentration in previously sedentary middle-aged men. *Am J Physiol* 1993;264(6 Pt 1):E896-901.

11. Seki Y, Berggren JR, Houmard JA, Charron MJ. Glucose transporter expression in skeletal muscle of endurance-trained individuals. *Med Sci Sports Exerc* 2006;38(6):1088-92.
12. Fueger PT, Shearer J, Krueger TM, Posey KA, Bracy DP, Heikkinen S, et al. Hexokinase II protein content is a determinant of exercise endurance capacity in the mouse. *J Physiol* 2005;566(Pt 2):533-41.
13. Fueger PT, Heikkinen S, Bracy DP, Malabanan CM, Pencek RR, Laakso M, et al. Hexokinase II partial knockout impairs exercise-stimulated glucose uptake in oxidative muscles of mice. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2003;285(5):E958-63.
14. Cheatham B, Kahn CR. Insulin action and the insulin signaling network. *Endocr Rev* 1995;16(2):117-42.
15. Bataille D, Dalle S, Hani EH, Longuet C, Costes S, Fontes G. [Pathophysiology of glucagon secretion]. *Ann Endocrinol (Paris)* 2004;65(1):24-7.
16. Tatar P, Kozlowski S, Vigas M, Nazar K, Kvetnansky R, Jezova D, et al. Endocrine response to physical efforts with equivalent total work loads but different intensities in man. *Endocrinol Exp* 1984;18(4):233-9.
17. Ivy JL. The insulin-like effect of muscle contraction. *Exerc Sport Sci Rev* 1987;15:29-51.
18. Nguyen UN, Mougín F, Simon-Rigaud ML, Rouillon JD, Marguet P, Regnard J. Influence of exercise duration on serum insulin-like growth factor and its binding proteins in athletes. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 1998;78(6):533-7.
19. Evans AA, Khan S, Smith ME. Evidence for a hormonal action of beta-endorphin to increase glucose uptake in resting and contracting skeletal muscle. *J Endocrinol* 1997;155(2):387-92.
20. Coggan AR, Coyle EF. Effect of carbohydrate feedings during high-intensity exercise. *J Appl Physiol* 1988;65(4):1703-9.
21. Jeukendrup AE. Carbohydrate intake during exercise and performance. *Nutrition* 2004;20(7-8):669-77.
22. Manetta J, Brun JF, Prefaut C, Mercier J. Substrate oxidation during exercise at moderate and hard intensity in middle-aged and young athletes vs sedentary men. *Metabolism* 2005;54(11):1411-9.
23. Romijn JA, Coyle EF, Sidossis LS, Gastaldelli A, Horowitz JF, Endert E, et al. Regulation of endogenous fat and carbohydrate metabolism in relation to exercise intensity and duration. *Am J Physiol* 1993;265(3 Pt 1):E380-91.
24. Achten J, Jeukendrup AE. Optimizing fat oxidation through exercise and diet. *Nutrition* 2004;20(7-8):716-27.



25. Brandou F, Savy-Pacaux AM, Marie J, Bauloz M, Maret-Fleuret I, Borrocoso S, et al. Impact of high- and low-intensity targeted exercise training on the type of substrate utilization in obese boys submitted to a hypocaloric diet. *Diabetes Metab* 2005;31(4 Pt 1):327-35.
26. Slentz CA, Aiken LB, Houmard JA, Bales CW, Johnson JL, Tanner CJ, et al. Inactivity, exercise, and visceral fat. STRRIDE: a randomized, controlled study of exercise intensity and amount. *J Appl Physiol* 2005;99(4):1613-8.
27. Price M, Halabi K. The effects of work-rest duration on intermittent exercise and subsequent performance. *J Sports Sci* 2005;23(8):835-42.
28. Ribeiro Braga L, de Mello MA, Gobatto CA. [Continuous and intermittent exercise: effects of training and detraining on body fat in obese rats]. *Arch Latinoam Nutr* 2004;54(1):58-65.
29. Tabata I, Nishimura K, Kouzaki M, Hirai Y, Ogita F, Miyachi M, et al. Effects of moderate-intensity endurance and high-intensity intermittent training on anaerobic capacity and VO<sub>2</sub>max. *Med Sci Sports Exerc* 1996;28(10):1327-30.
30. Tomlin DL, Wenger HA. The relationship between aerobic fitness and recovery from high intensity intermittent exercise. *Sports Med* 2001;31(1):1-11.
31. Curi R, Lagranha CJ, Jr JRG, Pithon-Curi TC, Jr AHL, Pellegrinotti ÍL, et al. Ciclo de Krebs como fator limitante na utilização de ácidos graxos durante o exercício aeróbico. *Arq Bras Endocrinol Metab* 2003;47(2):135-43.
32. Fournier PA, Brau L, Ferreira LD, Fairchild T, Raja G, James A, et al. Glycogen resynthesis in the absence of food ingestion during recovery from moderate or high intensity physical activity: novel insights from rat and human studies. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol* 2002;133(3):755-63.
33. Friedman JE, Neuffer PD, Dohm GL. Regulation of glycogen resynthesis following exercise. Dietary considerations. *Sports Med* 1991;11(4):232-43.
34. Gladden LB. Muscle as a consumer of lactate. *Med Sci Sports Exerc* 2000;32(4):764-71.
35. Goodwin GW, Taegtmeyer H. Improved energy homeostasis of the heart in the metabolic state of exercise. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2000;279(4):H1490-501.
36. Gleeson TT. Post-exercise lactate metabolism: a comparative review of sites, pathways, and regulation. *Annu Rev Physiol* 1996;58:565-81.
37. Palmer TN, Fournier PA. Replenishment of muscle glycogen after high-intensity exercise: a role for intramuscular lactate glyconeogenesis? *Biochem Soc Trans* 1997;25(1):25-30.

38. Milligan CL, Wood CM. Tissue intracellular acid-base status and the fate of lactate after exhaustive exercise in the rainbow trout. *J Exp Biol* 1986;123:123-44.
39. Milligan CL, Wood CM. Intracellular and extracellular acid-base status and H<sup>+</sup> exchange with the environment after exhaustive exercise in the rainbow trout. *J Exp Biol* 1986;123:93-121.
40. Pagnotta A, Milligan CL. The role of blood glucose in the restoration of muscle glycogen during recovery from exhaustive exercise in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and winter flounder (*Pseudopleuronectes americanus*). *J Exp Biol* 1991;161:489-508.
41. Fournier PA, Guderley H. Metabolic fate of lactate after vigorous activity in the leopard frog, *Rana pipiens*. *Am J Physiol* 1992;262(2 Pt 2):R245-54.
42. Fournier PA, Petrof EO, Guderley H. The glucosidic pathways and glucose production by frog muscle. *J Biol Chem* 1992;267(12):8234-7.
43. Lehninger A. L.; Nelson DL. Principles of Biochemistry. 3rd edition ed: W.H. Freeman & Company; 2000.
44. Lavoie JM, Fillion Y, Couturier K, Corriveau P. Evidence that the decrease in liver glycogen is associated with the exercise-induced increase in IGFBP-1. *J Appl Physiol* 2002;93(2):798-804; discussion 797.
45. Knechtle B. [Energy turnover in endurance exercise]. *Schweiz Rundsch Med Prax* 2004;93(12):457-68.
46. Sriwijitkamol A, Ivy JL, Christ-Roberts C, DeFronzo RA, Mandarino LJ, Musi N. LKB1-AMPK signaling in muscle from obese insulin-resistant Zucker rats and effects of training. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2006;290(5):E925-32.
47. Lavoie JM, Cardin S, Doiron B. Influence of hepatic vagus nerve on pancreatic hormone secretion during exercise. *Am J Physiol* 1989;257(6 Pt 1):E855-9.
48. Lancha AH, Jr., Recco MB, Curi R. Pyruvate carboxylase activity in the heart and skeletal muscles of the rat. Evidence for a stimulating effect of exercise. *Biochem Mol Biol Int* 1994;32(3):483-9.
49. Welsh RS, Davis JM, Burke JR, Williams HG. Carbohydrates and physical/mental performance during intermittent exercise to fatigue. *Med Sci Sports Exerc* 2002;34(4):723-31.
50. Brouns F, van der Vusse GJ. Utilization of lipids during exercise in human subjects: metabolic and dietary constraints. *Br J Nutr* 1998;79(2):117-28.
51. Lange KH. Fat metabolism in exercise--with special reference to training and growth hormone administration. *Scand J Med Sci Sports* 2004;14(2):74-99.

52. Bangsbo J, Norregaard L, Thorsoe F. The effect of carbohydrate diet on intermittent exercise performance. *Int J Sports Med* 1992;13(2):152-7.
53. Hargreaves M. Muscle glycogen and metabolic regulation. *Proc Nutr Soc* 2004;63(2):217-20.
54. Burke LM, Loucks AB, Broad N. Energy and carbohydrate for training and recovery. *J Sports Sci* 2006;24(7):675-85.
55. Johnson NA, Stannard SR, Thompson MW. Muscle triglyceride and glycogen in endurance exercise: implications for performance. *Sports Med* 2004;34(3):151-64.
56. Kempainen J, Aalto S, Fujimoto T, Kalliokoski KK, Langsjo J, Oikonen V, et al. High intensity exercise decreases global brain glucose uptake in humans. *J Physiol* 2005;568(Pt 1):323-32.
57. Borer KT. The effects of exercise on growth. *Sports Med* 1995;20(6):375-97.
58. Dorado C, Sanchis-Moysi J, Calbet JA. Effects of recovery mode on performance, O<sub>2</sub> uptake, and O<sub>2</sub> deficit during high-intensity intermittent exercise. *Can J Appl Physiol* 2004;29(3):227-44.
59. Jeukendrup AE, Jentjens R. Oxidation of carbohydrate feedings during prolonged exercise: current thoughts, guidelines and directions for future research. *Sports Med* 2000;29(6):407-24.
60. Kimber NE, Heigenhauser GJ, Spriet LL, Dyck DJ. Skeletal muscle fat and carbohydrate metabolism during recovery from glycogen-depleting exercise in humans. *J Physiol* 2003;548(Pt 3):919-27.
61. Costill DL. Carbohydrate for athletic training and performance. *Bol Asoc Med P R* 1991;83(8):350-3.
62. Boulay MR, Song TM, Serresse O, Theriault G, Simoneau JA, Bouchard C. Changes in plasma electrolytes and muscle substrates during short-term maximal exercise in humans. *Can J Appl Physiol* 1995;20(1):89-101.
63. Hebestreit H, Meyer F, Htay H, Heigenhauser GJ, Bar-Or O. Plasma metabolites, volume and electrolytes following 30-s high-intensity exercise in boys and men. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 1996;72(5-6):563-9.
64. Noakes TD. Fluid replacement during exercise. *Exerc Sport Sci Rev* 1993;21:297-330.
65. Renaud JM. Modulation of force development by Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup> K<sup>+</sup> pump and KATP channel during muscular activity. *Can J Appl Physiol* 2002;27(3):296-315.

66. Schott HC, 2nd, Bohart GV, Eberhart SW. Potassium and lactate uptake by noncontracting tissue during strenuous exercise. *Equine Vet J Suppl* 2002(34):532-8.
67. Sostaric SM, Skinner SL, Brown MJ, Sangkabutra T, Medved I, Medley T, et al. Alkalosis increases muscle K<sup>+</sup> release, but lowers plasma [K<sup>+</sup>] and delays fatigue during dynamic forearm exercise. *J Physiol* 2006;570(Pt 1):185-205.
68. Cole KJ, Grandjean PW, Sobszak RJ, Mitchell JB. Effect of carbohydrate composition on fluid balance, gastric emptying, and exercise performance. *Int J Sport Nutr* 1993;3(4):408-17.
69. Reichard GA, Issekutz B, Jr., Kimbel P, Hochella NJ, Weinhouse S. Blood glucose replacement rates in normal and diabetic humans. *J Appl Physiol* 1961;16:789-95.
70. Deuster PA, Dolev E, Kyle SB, Anderson RA, Schoemaker EB. Magnesium homeostasis during high-intensity anaerobic exercise in men. *J Appl Physiol* 1987;62(2):545-50.
71. Andres R, Baltzan MA, Cader G, Zierler KL. Effect of insulin on carbohydrate metabolism and on potassium in the forearm of man. *J Clin Invest* 1962;41:108-15.
72. Saltin B. Metabolic fundamentals in exercise. *Med Sci Sports* 1973;5(3):137-46.
73. Narahara HT, Ozand P, Cori CF. Studies of tissue permeability. VII. The effect of insulin on glucose penetration and phosphorylation in frog muscle. *J Biol Chem* 1960;235:3370-8.
74. Saengsirisuwan V, Perez FR, Sloniger JA, Maier T, Henriksen EJ. Interactions of exercise training and alpha-lipoic acid on insulin signaling in skeletal muscle of obese Zucker rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2004;287(3):E529-36.
75. Ingle DJ, Nezamis JE, Morley EH. Work output and blood glucose values in severely diabetic rats with and without insulin. *Am J Physiol* 1951;165(2):469-72.
76. Kipnis DM, Cori CF. Studies of tissue permeability. V. The penetration and phosphorylation of 2-deoxyglucose in the rat diaphragm. *J Biol Chem* 1959;234(1):171-7.
77. Narahara HT, Ozand P. Studies of tissue permeability. IX. The effect of insulin on the penetration of 3-methylglucose-H<sup>3</sup> in frog muscle. *J Biol Chem* 1963;238:40-9.
78. Grubb B, Snarr JF. Effect of flow rate and glucose concentration on glucose uptake rate by the rat limb. *Proc Soc Exp Biol Med* 1977;154(1):33-6.

79. Sandoval DA, Guy DL, Richardson MA, Ertl AC, Davis SN. Effects of low and moderate antecedent exercise on counterregulatory responses to subsequent hypoglycemia in type 1 diabetes. *Diabetes* 2004;53(7):1798-806.
80. Saris WH, van Loon LJ. [Nutrition and health--nutrition and performance in sports]. *Ned Tijdschr Geneeskd* 2004;148(15):708-12.
81. Goldstein MS. Humoral nature of the hypoglycemic factor of muscular work. *Diabetes* 1961;10:232-4.
82. Roach PJ, Cao Y, Corbett CA, DePaoli-Roach AA, Farkas I, Fiol CJ, et al. Glycogen metabolism and signal transduction in mammals and yeast. *Adv Enzyme Regul* 1991;31:101-20.
83. Larner J. Insulin-signaling mechanisms. Lessons from the old testament of glycogen metabolism and the new testament of molecular biology. *Diabetes* 1988;37(3):262-75.
84. Roach PJ. Glycogen and its metabolism. *Curr Mol Med* 2002;2(2):101-20.
85. Felig P, Wahren J. Fuel homeostasis in exercise. *N Engl J Med* 1975;293(21):1078-84.
86. Wahren J. Quantitative aspects of blood flow and oxygen uptake in the human forearm during rhythmic exercise. *Acta Physiol Scand Suppl* 1966;269:1-93.
87. Wahren J, Felig P, Ahlborg G, Jorfeldt L. Glucose metabolism during leg exercise in man. *J Clin Invest* 1971;50(12):2715-25.
88. Baldwin KM, Fitts RH, Booth FW, Winder WW, Holloszy JO. Depletion of muscle and liver glycogen during exercise. Protective effect of training. *Pflugers Arch* 1975;354(3):203-12.
89. Baldwin KM, Reitman JS, Terjung RL, Winder WW, Holloszy JO. Substrate depletion in different types of muscle and in liver during prolonged running. *Am J Physiol* 1973;225(5):1045-50.
90. Fueger PT, Hess HS, Posey KA, Bracy DP, Pencek RR, Charron MJ, et al. Control of exercise-stimulated muscle glucose uptake by GLUT4 is dependent on glucose phosphorylation capacity in the conscious mouse. *J Biol Chem* 2004.
91. Fueger PT, Bracy DP, Malabanan CM, Pencek RR, Granner DK, Wasserman DH. Hexokinase II overexpression improves exercise-stimulated but not insulin-stimulated muscle glucose uptake in high-fat-fed C57BL/6J mice. *Diabetes* 2004;53(2):306-14.
92. Coyle EF. Fluid and fuel intake during exercise. *J Sports Sci* 2004;22(1):39-55.

93. Angus DJ, Febbraio MA, Hargreaves M. Plasma glucose kinetics during prolonged exercise in trained humans when fed carbohydrate. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2002;283(3):E573-7.
94. Hawley JA. Exercise as a therapeutic intervention for the prevention and treatment of insulin resistance. *Diabetes Metab Res Rev* 2004;20(5):383-93.
95. Watt MJ, Howlett KF, Febbraio MA, Spriet LL, Hargreaves M. Adrenaline increases skeletal muscle glycogenolysis, pyruvate dehydrogenase activation and carbohydrate oxidation during moderate exercise in humans. *J Physiol* 2001;534(Pt 1):269-78.
96. Goodyear LJ, Hirshman MF, Napoli R, Calles J, Markuns JF, Ljungqvist O, et al. Glucose ingestion causes GLUT4 translocation in human skeletal muscle. *Diabetes* 1996;45(8):1051-6.
97. Anthony TG, Anthony JC, Lewitt MS, Donovan SM, Layman DK. Time course changes in IGFBP-1 after treadmill exercise and postexercise food intake in rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2001;280(4):E650-656.
98. Goodyear LJ, Hirshman MF, Smith RJ, Horton ES. Glucose transporter number, activity, and isoform content in plasma membranes of red and white skeletal muscle. *Am J Physiol* 1991;261(5 Pt 1):E556-61.
99. Henriksen EJ, Bourey RE, Rodnick KJ, Koranyi L, Permutt MA, Holloszy JO. Glucose transporter protein content and glucose transport capacity in rat skeletal muscles. *Am J Physiol* 1990;259(4 Pt 1):E593-8.
100. Juel C, Klarskov C, Nielsen JJ, Krstrup P, Mohr M, Bangsbo J. Effect of high-intensity intermittent training on lactate and H<sup>+</sup> release from human skeletal muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2004;286(2):E245-51.
101. Morris JG, Nevill ME, Boobis LH, Macdonald IA, Williams C. Muscle metabolism, temperature, and function during prolonged, intermittent, high-intensity running in air temperatures of 33 degrees and 17 degrees C. *Int J Sports Med* 2005;26(10):805-14.
102. Robergs RA, Ghiasvand F, Parker D. Biochemistry of exercise-induced metabolic acidosis. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2004;287(3):R502-16.
103. Stallknecht B, Vissing J, Galbo H. Lactate production and clearance in exercise. Effects of training. A mini-review. *Scand J Med Sci Sports* 1998;8(3):127-31.
104. Juel C. Muscle pH regulation: role of training. *Acta Physiol Scand* 1998;162(3):359-66.
105. Juel C. Lactate-proton cotransport in skeletal muscle. *Physiol Rev* 1997;77(2):321-58.

106. Coggan AR, Swanson SC, Mendenhall LA, Habash DL, Kien CL. Effect of endurance training on hepatic glycogenolysis and gluconeogenesis during prolonged exercise in men. *Am J Physiol* 1995;268(3 Pt 1):E375-83.
107. Brooks GA. Current concepts in lactate exchange. *Med Sci Sports Exerc* 1991;23(8):895-906.
108. Kemp G, Boning D, Beneke R, Maassen N. Explaining pH Change in Exercising Muscle: Lactic acid, Proton Consumption, and Buffering vs. Strong Ion Difference. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2006;291(1):R235-7.
109. Johnston L, McNaughton L. The physiological requirements of Soccer refereeing. *Aust J Sci Med Sport* 1994;26(3-4):67-72.
110. Scheen AJ, Jandrain BJ. [Hormonal-metabolic adaptations to muscular exercise]. *Rev Med Liege* 2001;56(4):195-9.
111. Gibala MJ, Young ME, Taegtmeyer H. Anaplerosis of the citric acid cycle: role in energy metabolism of heart and skeletal muscle. *Acta Physiol Scand* 2000;168(4):657-65.
112. Brouns F, Saris WH, Beckers E, Adlercreutz H, van der Vusse GJ, Keizer HA, et al. Metabolic changes induced by sustained exhaustive cycling and diet manipulation. *Int J Sports Med* 1989;10 Suppl 1:S49-62.
113. Kraemer WJ, Ratamess NA. Hormonal responses and adaptations to resistance exercise and training. *Sports Med* 2005;35(4):339-61.
114. Bauman WA, Spungen AM, Adkins RH, Kemp BJ. Metabolic and endocrine changes in persons aging with spinal cord injury. *Assist Technol* 1999;11(2):88-96.
115. Viru A, Smirnova T. Health promotion and exercise training. *Sports Med* 1995;19(2):123-36.
116. Kharitonova IV, Gornushkina E, Nikolaev VI, Ovchinnikov BV. [The reaction characteristics of the endocrine and cardiovascular systems in persons with different types of temperament to emotional stress]. *Fiziol Cheloveka* 2000;26(3):121-5.
117. Mormede P, Courvoisier H, Ramos A, Marissal-Arvy N, Ousova O, Desautes C, et al. Molecular genetic approaches to investigate individual variations in behavioral and neuroendocrine stress responses. *Psychoneuroendocrinology* 2002;27(5):563-83.
118. Piziak VK. Medical management of obesity. *Compr Ther* 1991;17(3):54-9.
119. Kristiansen S, Gade J, Wojtaszewski JF, Kiens B, Richter EA. Glucose uptake is increased in trained vs. untrained muscle during heavy exercise. *J Appl Physiol* 2000;89(3):1151-8.

120. Le Roith D. Seminars in medicine of the Beth Israel Deaconess Medical Center. Insulin-like growth factors. *N Engl J Med* 1997;336(9):633-40.
121. Accili D. Receptor tyrosine kinases. In: SM L, editor. *MCR Syllabus: introduction to molecular and cellular research*. Miami, FL, US: Endocrine Society; 2001.
122. Whitehead JP, Clark SF, Urso B, James DE. Signalling through the insulin receptor. *Curr Opin Cell Biol* 2000;12(2):222-8.
123. Seedorf K. Intracellular signaling by growth factors. *Metabolism* 1995;44(10 Suppl 4):24-32.
124. Kuo CH, Hunt DG, Ding Z, Ivy JL. Effect of carbohydrate supplementation on postexercise GLUT-4 protein expression in skeletal muscle. *J Appl Physiol* 1999;87(6):2290-5.
125. Chang L, Chiang SH, Saltiel AR. Insulin signaling and the regulation of glucose transport. *Mol Med* 2004;10(7-12):65-71.
126. Holloszy JO, Kohrt WM, Hansen PA. The regulation of carbohydrate and fat metabolism during and after exercise. *Front Biosci* 1998;3:D1011-27.
127. Rao J, Oz G, Seaquist ER. Regulation of cerebral glucose metabolism. *Minerva Endocrinol* 2006;31(2):149-58.
128. Below PR, Mora-Rodriguez R, Gonzalez-Alonso J, Coyle EF. Fluid and carbohydrate ingestion independently improve performance during 1 h of intense exercise. *Med Sci Sports Exerc* 1995;27(2):200-10.
129. Deuster PA, Singh A, Hofmann A, Moses FM, Chrousos GC. Hormonal responses to ingesting water or a carbohydrate beverage during a 2 h run. *Med Sci Sports Exerc* 1992;24(1):72-9.
130. Massicotte D, Peronnet F, Adopo E, Brisson GR, Hillaire-Marcel C. Effect of metabolic rate on the oxidation of ingested glucose and fructose during exercise. *Int J Sports Med* 1994;15(4):177-80.
131. Murray R, Paul GL, Seifert JG, Eddy DE. Responses to varying rates of carbohydrate ingestion during exercise. *Med Sci Sports Exerc* 1991;23(6):713-8.
132. Louis-Sylvestre J. [Insulin and physical exercise]. *Diabete Metab* 1987;13(2):152-6.
133. McGee SL, Hargreaves M. Exercise and skeletal muscle glucose transporter 4 expression: molecular mechanisms. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2006;33(4):395-9.
134. Brubaker PL, Drucker DJ. Structure-function of the glucagon receptor family of G protein-coupled receptors: the glucagon, GIP, GLP-1, and GLP-2 receptors. *Receptors Channels* 2002;8(3-4):179-88.



135. Downes MA. Glucagon. *Emerg Med (Fremantle)* 2003;15(5-6):480-5.
136. Nussdorfer GG, Bahcelioglu M, Neri G, Malendowicz LK. Secretin, glucagon, gastric inhibitory polypeptide, parathyroid hormone, and related peptides in the regulation of the hypothalamus- pituitary-adrenal axis. *Peptides* 2000;21(2):309-24.
137. Tappy L. [Glucagon and glucose metabolism]. *Ann Endocrinol (Paris)* 2004;65(1):77-9.
138. Munoz A, Hu M, Hussain K, Bryan J, Aguilar-Bryan L, Rajan AS. Regulation of glucagon secretion at low glucose concentrations: evidence for adenosine triphosphate-sensitive potassium channel involvement. *Endocrinology* 2005;146(12):5514-21.
139. Zinker BA, Allison RG, Lacy DB, Wasserman DH. Interaction of exercise, insulin, and hypoglycemia studied using euglycemic and hypoglycemic insulin clamps. *Am J Physiol* 1997;272(4 Pt 1):E530-42.
140. Galbo H, Christensen NJ, Mikines KJ, Sonne B, Hilsted J, Hagen C, et al. The effect of fasting on the hormonal response to graded exercise. *J Clin Endocrinol Metab* 1981;52(6):1106-12.
141. Galbo H, Hedekov CJ, Capito K, Vinten J. The effect of physical training on insulin secretion of rat pancreatic islets. *Acta Physiol Scand* 1981;111(1):75-9.
142. Lavoie C. Glucagon receptors: effect of exercise and fasting. *Can J Appl Physiol* 2005;30(3):313-27.
143. Hargreaves M, Richter EA. Regulation of skeletal muscle glycogenolysis during exercise. *Can J Sport Sci* 1988;13(4):197-203.
144. Wasserman DH. Regulation of glucose fluxes during exercise in the postabsorptive state. *Annu Rev Physiol* 1995;57:191-218.
145. Karacabey K, Saygin O, Ozmerdivenli R, Zorba E, Godekmerdan A, Bulut V. The effects of exercise on the immune system and stress hormones in sportswomen. *Neuro Endocrinol Lett* 2005;26(4):361-6.
146. Mastorakos G, Pavlatou M. Exercise as a stress model and the interplay between the hypothalamus-pituitary-adrenal and the hypothalamus-pituitary-thyroid axes. *Horm Metab Res* 2005;37(9):577-84.
147. Mastorakos G, Pavlatou M, Diamanti-Kandarakis E, Chrousos GP. Exercise and the stress system. *Hormones (Athens)* 2005;4(2):73-89.
148. Clow A, Thorn L, Evans P, Hucklebridge F. The awakening cortisol response: methodological issues and significance. *Stress* 2004;7(1):29-37.

149. Crofton PM, Midgley PC. Cortisol and growth hormone responses to spontaneous hypoglycaemia in infants and children. *Arch Dis Child* 2004;89(5):472-8.
150. Enyeart JJ. Biochemical and Ionic signaling mechanisms for ACTH-stimulated cortisol production. *Vitam Horm* 2005;70:265-79.
151. Ferrari P. Cortisol and the renal handling of electrolytes: role in glucocorticoid-induced hypertension and bone disease. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2003;17(4):575-89.
152. Marliss EB, Vranic M. Intense exercise has unique effects on both insulin release and its roles in gluoregulation: implications for diabetes. *Diabetes* 2002;51 Suppl 1:S271-83.
153. Coker RH, Kjaer M. Gluoregulation during exercise: the role of the neuroendocrine system. *Sports Med* 2005;35(7):575-83.
154. Brooks GA. Amino acid and protein metabolism during exercise and recovery. *Med Sci Sports Exerc* 1987;19(5 Suppl):S150-6.
155. Fernandez-Pastor VJ, Ruiz M, Diego-Acosta AM, Avila C, Garcia JC, Perez F, et al. Metabolic and hormonal changes during aerobic exercise in distance runners. *J Physiol Biochem* 1999;55(1):7-16.
156. Nuutila P, Knuuti MJ, Heinonen OJ, Ruotsalainen U, Teras M, Bergman J, et al. Different alterations in the insulin-stimulated glucose uptake in the athlete's heart and skeletal muscle. *J Clin Invest* 1994;93(5):2267-74.
157. Maughan RJ, Bethell LR, Leiper JB. Effects of ingested fluids on exercise capacity and on cardiovascular and metabolic responses to prolonged exercise in man. *Exp Physiol* 1996;81(5):847-59.
158. Maughan RJ, Fenn CE, Leiper JB. Effects of fluid, electrolyte and substrate ingestion on endurance capacity. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 1989;58(5):481-6.
159. Von Duvillard SP, Braun WA, Markofski M, Beneke R, Leithauser R. Fluids and hydration in prolonged endurance performance. *Nutrition* 2004;20(7-8):651-6.
160. Hakkinen K, Pakarinen A, Alen M, Kauhanen H, Komi PV. Neuromuscular and hormonal responses in elite athletes to two successive strength training sessions in one day. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 1988;57(2):133-9.
161. Wasserman DH, Cherrington AD. Hepatic fuel metabolism during muscular work: role and regulation. *Am J Physiol* 1991;260(6 Pt 1):E811-24.
162. Coyle EF, Coggan AR, Hemmert MK, Ivy JL. Muscle glycogen utilization during prolonged strenuous exercise when fed carbohydrate. *J Appl Physiol* 1986;61(1):165-72.

163. ADA A. Position of the American Dietetic Association, Dietitians of Canada, and the American College of Sports Medicine: Nutrition and athletic performance. *J Am Diet Assoc* 2000;100(12):1543-56.
164. Joint Position Statement: nutrition and athletic performance. American College of Sports Medicine, American Dietetic Association, and Dietitians of Canada. *Med Sci Sports Exerc* 2000;32(12):2130-45.
165. Duchman SM, Ryan AJ, Schedl HP, Summers RW, Bleiler TL, Gisolfi CV. Upper limit for intestinal absorption of a dilute glucose solution in men at rest. *Med Sci Sports Exerc* 1997;29(4):482-8.
166. Stumpel F, Kucera T, Jungermann K. Impaired stimulation of intestinal glucose absorption via hepatoenteral nerves in streptozotocin-diabetic rats. *Am J Physiol* 1999;277(2 Pt 1):G285-91.
167. Argiles JM, Zegri A, Arbos J, Garcia C, Lopez-Soriano FJ. The role of insulin in the intestinal absorption of glucose in the rat. *Int J Biochem* 1992;24(4):631-6.
168. Qin ZY, Xu AH. [Effect of insulin on the intestinal absorption of glucose in scalded rats]. *Zhonghua Zheng Xing Shao Shang Wai Ke Za Zhi* 1985;1(4):267-9.
169. Stumpel F, Kucera T, Gardemann A, Jungermann K. Acute increase by portal insulin in intestinal glucose absorption via hepatoenteral nerves in the rat. *Gastroenterology* 1996;110(6):1863-9.
170. Drucker DJ. Biological actions and therapeutic potential of the glucagon-like peptides. *Gastroenterology* 2002;122(2):531-44.
171. Pencek RR, Koyama Y, Lacy DB, James FD, Fueger PT, Jabbour K, et al. Transporter-mediated absorption is the primary route of entry and is required for passive absorption of intestinal glucose into the blood of conscious dogs. *J Nutr* 2002;132(7):1929-34.
172. Shepherd EJ, Helliwell PA, Mace OJ, Morgan EL, Patel N, Kellett GL. Stress and glucocorticoid inhibit apical GLUT2-trafficking and intestinal glucose absorption in rat small intestine. *J Physiol* 2004;560(Pt 1):281-90.
173. Pappenheimer JR. Paracellular intestinal absorption of glucose, creatinine, and mannitol in normal animals: relation to body size. *Am J Physiol* 1990;259(2 Pt 1):G290-9.
174. Gulliford MC, Bicknell EJ, Pover GG, Scarpello JH. Intestinal glucose and amino acid absorption in healthy volunteers and noninsulin-dependent diabetic subjects. *Am J Clin Nutr* 1989;49(6):1247-51.
175. Goodlad RA, Lee CY, Gilbey SG, Ghatei MA, Bloom SR. Insulin and intestinal epithelial cell proliferation. *Exp Physiol* 1993;78(5):697-705.

176. Young AA, Gedulin BR, Rink TJ. Dose-responses for the slowing of gastric emptying in a rodent model by glucagon-like peptide (7-36) NH<sub>2</sub>, amylin, cholecystokinin, and other possible regulators of nutrient uptake. *Metabolism* 1996;45(1):1-3.
177. Leiper JB, Nicholas CW, Ali A, Williams C, Maughan RJ. The effect of intermittent high-intensity running on gastric emptying of fluids in man. *Med Sci Sports Exerc* 2005;37(2):240-7.
178. Maughan RJ, Leiper JB. Fluid replacement requirements in soccer. *J Sports Sci* 1994;12 Spec No:S29-34.
179. Burke LM. Nutrition for post-exercise recovery. *Aust J Sci Med Sport* 1997;29(1):3-10.
180. Moyer AE, Rodin J. Fructose and behavior: does fructose influence food intake and macronutrient selection? *Am J Clin Nutr* 1993;58(5 Suppl):810S-814S.
181. Mitchell JB, Costill DL, Houmard JA, Fink WJ, Robergs RA, Davis JA. Gastric emptying: influence of prolonged exercise and carbohydrate concentration. *Med Sci Sports Exerc* 1989;21(3):269-74.
182. Shephard RJ, Leatt P. Carbohydrate and fluid needs of the soccer player. *Sports Med* 1987;4(3):164-76.
183. Kraemer WJ. Endocrine responses to resistance exercise. *Med Sci Sports Exerc* 1988;20(5 Suppl):S152-7.
184. McMurray RG, Hackney AC. Interactions of metabolic hormones, adipose tissue and exercise. *Sports Med* 2005;35(5):393-412.
185. Muller MJ, Dettmer A, Tettenborn M, Radoch E, Fichter J, Wagner TO, et al. Metabolic, endocrine, haemodynamic and pulmonary responses to different types of exercise in individuals with normal or reduced liver function. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 1996;74(3):246-57.
186. Sagnol M, Claustre J, Pequignot JM, Fellmann N, Coudert J, Peyrin L. Catecholamines and fuels after an ultralong run: persistent changes after 24-h recovery. *Int J Sports Med* 1989;10(3):202-6.
187. Durand RJ, Castracane VD, Hollander DB, Tryniecki JL, Bamman MM, O'Neal S, et al. Hormonal responses from concentric and eccentric muscle contractions. *Med Sci Sports Exerc* 2003;35(6):937-43.
188. Young EA, Abelson J, Lightman SL. Cortisol pulsatility and its role in stress regulation and health. *Front Neuroendocrinol* 2004;25(2):69-76.
189. Viru A. Plasma hormones and physical exercise. *Int J Sports Med* 1992;13(3):201-9.

190. Radosavljevic T, Todorovic V, Sikic B. [Insulin secretion: mechanisms of regulation]. *Med Pregl* 2004;57(5-6):249-53.
191. Ralston SL. Insulin and glucose regulation. *Vet Clin North Am Equine Pract* 2002;18(2):295-304, vii.
192. Tremblay F, Dubois MJ, Marette A. Regulation of GLUT4 traffic and function by insulin and contraction in skeletal muscle. *Front Biosci* 2003;8:d1072-84.
193. Young A. Inhibition of glucagon secretion. *Adv Pharmacol* 2005;52:151-71.
194. Greiwe JS, Hickner RC, Hansen PA, Racette SB, Chen MM, Holloszy JO. Effects of endurance exercise training on muscle glycogen accumulation in humans. *J Appl Physiol* 1999;87(1):222-6.
195. Krstrup P, Bangsbo J. Physiological demands of top-class soccer refereeing in relation to physical capacity: effect of intense intermittent exercise training. *J Sports Sci* 2001;19(11):881-91.
196. Haff GG, Schroeder CA, Koch AJ, Kuphal KE, Comeau MJ, Potteiger JA. The effects of supplemental carbohydrate ingestion on intermittent isokinetic leg exercise. *J Sports Med Phys Fitness* 2001;41(2):216-22.
197. Tsintzas K, Williams C. Human muscle glycogen metabolism during exercise. Effect of carbohydrate supplementation. *Sports Med* 1998;25(1):7-23.

**ARTIGO EM PORTUGUÊS**

**ARTIGO EM INGLÊS**

## ARTIGO EM PORTUGUÊS

### **Efeitos da suplementação de glicose durante exercício intermitente de alta intensidade no metabolismo de glicídios em ratos**

GIESEL VT<sup>1,3</sup>, RECHE M<sup>2,3</sup>, SCHNEIDER L<sup>1</sup>, ARAUJO L<sup>2,3</sup>, CORLETA HV<sup>2,3,4</sup>, CAPP E<sup>1,2,3,4</sup>

<sup>1</sup>Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Fisiologia, Departamento de Fisiologia, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, <sup>2</sup>Departamento de Ginecologia e Obstetrícia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, <sup>3</sup>Laboratório de Ginecologia e Obstetrícia Molecular, Centro de Pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, RS, Brasil, <sup>4</sup>Núcleo Gerar de Reprodução Assistida, Hospital Moinhos de Vento, Porto Alegre, RS, Brasil

Endereço para correspondência:

Edison Capp

Rua Dr. Barros Cassal, 411/22

CEP 90035 003 - Porto Alegre, RS

edcapp@ufrgs.br

FAX: 051 3311 6588



## RESUMO

**Introdução:** os efeitos na ingestão de carboidratos durante a execução do exercício físico são de grande interesse na literatura. **Objetivo:** analisar a associação entre a ingestão de glicose durante exercício físico intermitente de alta intensidade e a variação dos índices de glicemia, lactato e glicogênio em ratos. **Métodos:** 40 ratos do sexo masculino e com 60 dias de idade foram separados em 8 grupos baseados na realização de exercício físico e na ingestão de carboidratos (glicose 20%) antes do exercício: TEC (Treinados, exercitados com suplementação de carboidrato), TES (Treinados, exercitados sem suplementação de carboidrato), TNC (Treinados, não exercitados e com suplementação de carboidrato), TNS (Treinados, não exercitados e sem suplementação de carboidrato), SEC (Sedentários, exercitados com suplementação de carboidrato), SES (Sedentários, exercitados sem suplementação de carboidrato), SNC (Sedentários, não exercitados e com suplementação de carboidrato), SNS (Sedentários, não exercitados e sem suplementação de carboidrato). O protocolo consistiu em 1 minuto de corrida acima do limiar de lactato, alternando com 30 segundos de corrida abaixo do mesmo, por 30 minutos, em esteira. Colheu-se sangue para que os parâmetros (glicemia e lactato) fossem medidos antes (T1) e após a realização do exercício (T2) e o glicogênio após o mesmo no fígado e músculo. **Resultados:** Os dados relacionados com os níveis de glicemia mostraram um aumento significativo ( $p < 0,05$ ) nos grupos TEC, TNC, SEC e SNC em T2, comparado com T1. Os valores dos níveis de lactato se mostraram significativamente ( $p < 0,05$ ) mais elevados em T2 em relação a T1, porém dentro do limiar do lactato. O treinamento também demonstrou um aumento significativo dos níveis de glicogênio em fígado e músculo. **Conclusão:** O exercício físico intermitente

previne o acúmulo de lactato e associado à suplementação de glicose se torna eficiente na manutenção da glicemia. O treinamento físico produz um aumento nas concentrações musculares e hepáticas de glicogênio com a glicose exógena promovendo uma economia dos mesmos.

**Palavras-chave:** exercício, intermitente, lactato, glicemia, glicogênio.

## INTRODUÇÃO

Os efeitos da ingestão de carboidratos durante a prática de exercícios físicos têm sido tema de vários estudos. Durante o exercício extenuante, onde o substrato energético preferencial é a glicose, ocorre um pico de produção de lactato. Quando o exercício é executado em intensidade moderada à baixa de forma contínua, onde o substrato preferencial são os ácidos graxos, há uma manutenção dos níveis séricos de lactato (1-3). No entanto, a forma de exercício predominante nos clubes, centros esportivos e Academias baseia-se no exercício intermitente que consiste em sessões de exercício de alta intensidade intercaladas por outras de baixa intensidade. Há na literatura uma grande lacuna em estudar os efeitos bioquímicos deste tipo de exercício, principalmente após suplementação de carboidratos.

A importância dos múltiplos reguladores das fontes de energia durante o exercício, tanto fatores endócrinos quanto produtos do metabolismo, variam com a intensidade do exercício (4). Destes resulta um aumento na razão catabolismo/anabolismo, o qual favorece o aumento do catabolismo, cuja magnitude depende da intensidade. No entanto, em exercícios muito intensos [ $>80\%$  do consumo máximo de oxigênio ( $VO_2$  máx)] em humanos, a oxidação de substratos aumenta tanto, principalmente a oxidação de glicose, que todas as alterações endócrinas juntas parecem ser insuficientes para explicar estas relações (5, 6).

Durante o repouso, a oxidação de lipídios é a principal fonte de energia. Neste estado, mudanças na oxidação de carboidratos representam apenas uma pequena porção do gasto energético total (7, 8). Neste período ocorrem pequenas alterações na oxidação de lactato e nos níveis de glicose.

No exercício intermitente, diferentes intensidades são utilizadas proporcionando a participação de diversas rotas metabólicas de forma intercalada (9). Nos picos extenuantes, quanto maior a intensidade progressivamente mais fibras musculares são necessárias com um maior percentual de fibras tipo II sendo recrutadas (10, 11). Neste momento, o substrato energético preferencial é a glicose. Nas sessões de baixa intensidade, as rotas metabólicas priorizadas são as aeróbias, através das fibras tipo I. Aqui, o substrato preferencial são os ácidos graxos livres presentes na circulação (12). No exercício intermitente, este intercâmbio energético no metabolismo faz presente um novo substrato. Uma estrutura química de três carbonos que é produzida mais intensamente em exercícios extenuantes e que já se mostrou de grande potencial energético: o lactato (3, 13).

Quanto à regulação da glicemia, já no início da realização do exercício os sinais gerados pela musculatura esquelética são traduzidos em respostas hormonais com alterações na secreção de insulina (14), glucagon (15), GH (16) e catecolaminas (17). A medida que as contrações musculares ocorrem, a concentração de insulina plasmática tanto pode permanecer constante quanto diminuir (18, 19). O glucagon se mantém ou aumenta aproximadamente duas vezes (15). Em um tipo de exercício onde existem sessões de alta e baixa intensidades intercaladas, as rotas metabólicas passam por um período de estabilização na oxidação de glicose que é substituída por um aumento na oxidação do lactato.

O lactato pode ser oxidado nas fibras tipo I e no coração. Pode também ser utilizado na síntese de glicose e glicogênio no fígado através do Ciclo de Cori (20). Nos períodos de baixa intensidade, após o segundo pico de exercício, a redução na

oxidação de lactato e glicose pode permitir uma proporção aumentada de lactato oxidado e convertido em glicogênio por uma destas vias. Durante o exercício de intensidade moderada ou alta o lactato substitui, em parte, a glicose como substrato de energia (21). Isto sugere que durante períodos de demanda aumentada de carboidratos (exercício intenso), o lactato pode “economizar” a glicose sanguínea disponibilizando esta para utilização em tecidos que são dependentes de glicose como substrato de energia (p.e., cérebro) (22).

Exercício intenso realizado por vários dias consecutivos sem consumo de altas concentrações de carboidratos pode diminuir severamente os estoques de glicogênio muscular (23, 24). Treinamento intenso com consumo concomitante de altas quantidades de carboidratos torna atletas mais aptos para treinamento intenso (23, 24). Além disso, mudanças no estado de humor são freqüentes em consumidores de baixa a moderada quantidade de carboidrato (25).

Baixas concentrações de glicogênio muscular estão associadas à fadiga, diminuição da performance e até mesmo *overtraining* (10). Os estoques de glicogênio do fígado e músculo podem ser manipulados pela dieta e, como demonstrado mais recentemente, por intervenções de treinamento (32). Apesar destas investigações, poucos estudos têm investigado os efeitos de diferentes estratégias dietéticas na disponibilidade de glicogênio no exercício intermitente.

O objetivo deste estudo foi analisar a associação entre a administração oral de glicose em solução durante a prática de exercício físico intermitente de alta intensidade e as alterações de glicemia, lactato e glicogênio em ratos.

## MÉTODOS

Quarenta ratos Wistar macho com 60 dias (massas entre 328 a 397 g) no começo do tratamento foram usados nos experimentos. Eles foram aclimatados por duas semanas em uma temperatura ambiente de 25°C com o ciclo de luz invertido 12horas/12horas. Os ratos foram mantidos com ração e água à vontade. Eles foram divididos em oito grupos após o protocolo de adaptação (uma semana), divisão esta baseada no treinamento e suplementação com carboidrato (glicose 20%). O protocolo de habituação consistiu de cinco (5) dias consecutivos com 10, 15, 20, 25, 30 minutos/dia de treinamento em esteira, respectivamente. Os grupos eram: TEC (treinado exercitado com carboidrato), TES (treinado exercitado sem carboidrato), TNC (treinado não exercitado com carboidrato), TNS (treinado não exercitado sem carboidrato), SEC (sedentário exercitado com carboidrato), SES (sedentário exercitado sem carboidrato), SNC (sedentário não exercitado com carboidrato) e SNS (sedentário não exercitado sem carboidrato). O treinamento consistiu em três meses (sempre no escuro), cinco vezes por semana durante trinta (30) minutos por dia de todos os ratos que participariam de grupos treinados. Os ratos pertencentes ao grupo sedentário passaram pelas mesmas etapas, mas com a esteira desligada. O protocolo de treinamento consistiu de um minuto correndo em esteira acima da velocidade máxima, determinada através de teste máximo (26), e 30 segundos correndo a 50% desta (exercício intermitente), durante 30 minutos, 5 vezes por semana. O protocolo no dia do experimento consistiu de um minuto correndo em esteira acima do limiar de lactato (baseado na curva de lactato delineada dois dias antes) e trinta segundos correndo abaixo deste, de forma intermitente, durante 30 minutos. Os ratos foram imobilizados e uma amostra de sangue foi retirada da cauda

para medida de glicemia com o Kit Accutrend e lactato com o lactímetro Accusport (27) antes (T1) e depois do exercício (T2). Os ratos que não participaram dos grupos com carboidrato receberam água no mesmo volume (1 mL). Todos os ratos foram ganhando massa durante o treinamento e os valores apresentados referem-se ao dia do experimento. No dia do experimento, a comida foi removida das gaiolas de todos os ratos as 7:00 horas e os testes foram realizados entre 8:00 e 12:00 horas.

O tamanho da amostra em cada grupo (5 ratos) foi determinado a partir dos resultados de Lavoie et al. (28), para um poder de amostragem de 80 % e um nível de significância de  $p < 0,005$ , usando o programa Pepi 3.0.

A administração oral de glicose ou água foi feita por gavagem utilizando uma seringa de gavagem no início do exercício, imediatamente após as medidas de glicose e lactato. No final do período de exercício outra medida de lactato e glicemia foi realizada, os animais foram rapidamente retirados da esteira e sofreram um deslocamento cervical. Imediatamente, a cavidade abdominal foi aberta e uma amostra do lobo esquerdo do fígado foi retirada. Em seguida, realizou-se a cirurgia para retirada de uma amostra do músculo gastrocnêmio. Ambos foram congelados em nitrogênio líquido e após estocados a  $-80^{\circ}\text{C}$ . A concentração do glicogênio foi determinada pelo método de Krisman (29).

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética da Universidade Federal do Rio Grande do Sul e foi conduzido de acordo com o Guia de Cuidados para uso de Animais de Laboratório do Instituto Nacional de Saúde (INS).

## **Análise Estatística**

Os resultados foram analisados por ANOVA fatorial e após foi realizado como post-hoc o teste de comparações múltiplas de Tukey. Foram considerados estatisticamente significativos valores  $p > 0,05$ .

## **RESULTADOS**

### **Glicogênio hepático**

A concentração de glicogênio hepático após 30 min de exercício intermitente foi significativamente maior no grupo TNS com uma concentração de 0,99 mg% comparado com SNS que mostrou uma concentração de 0,39 mg% ( $p < 0,001$ ), que demonstra um valor 150% menor. Também foi significativa a diferença do grupo TES comparado ao SES ( $p = 0,007$ ) (figura 1). No entanto, quando analisados separados, o grupo TEC apresentou maior concentração de glicogênio hepático que TES com valores correspondendo a 1,00mg% e 0,70mg%, respectivamente 43% menor ( $p = 0,007$ ); o grupo TNS apresentou maior concentração de glicogênio hepático que TES ( $p = 0,022$ ) (figura 2 A); e o grupo SNC apresentou maior concentração de glicogênio hepático que SNS ( $p < 0,001$ ). O grupo SEC também apresentou concentração de glicogênio hepático 107% maior que o grupo SES ( $p = 0,001$ ) (figura 2B).

### **Glicogênio muscular**

Quanto ao glicogênio muscular, quando analisados juntos sedentários e treinados (figura 3), após 30 min de exercício o grupo TNC apresentou concentração



de glicogênio muscular 19% maior que o SNC ( $p < 0,001$ ). Analisando separadamente (figura 4A) o grupo TNC apresentam maior concentração de glicogênio muscular que o TNS ( $p < 0,001$ ), TNC maior concentração de glicogênio que TEC ( $p = 0,003$ ), TEC maior concentração de glicogênio que TES ( $p < 0,001$ ) e TNS maior concentração de glicogênio que TES ( $p = 0,002$ ). O grupo SEC apresentou glicogênio muscular de 0,39 mg%, 30% maior que a concentração de glicogênio de 0,30mg% de SES ( $p < 0,001$ ) e o grupo SNS apresentou maior concentração de glicogênio muscular que SES ( $p = 0,021$ ).

### **Lactato**

O lactato sangüíneo foi medido pré-exercício, mostrando maior concentração sérica no grupo SNC que no TNC ( $p = 0,034$ ) (figura 5A). Considerando que os ratos ainda não haviam sido submetidos a exercício, esta diferença não seria esperada e poderia produzir um erro na análise dos resultados no tempo de 30 minutos. Para corrigir isto, foi feita uma análise de covariância e as médias foram corrigidas pelo tempo zero.

Após 30 min de exercício (figura 5B) o grupo SEC (média de 4,8mMol/L) apresentou maior concentração sérica que SNC (média de 2,8 mMol/L) ( $p = 0,026$ ) e o grupo SES apresentou uma concentração sérica média 100% maior que o grupo SNS ( $p = 0,004$ ).

### **Glicemia**

A glicemia antes do exercício (figura 6A) foi maior no grupo SNS em relação ao grupo SES ( $p = 0,027$ ). Desta forma, a glicemia também foi corrigida por uma

análise de covariância, pois neste momento a glicemia ainda não havia sido influenciada pela glicose exógena.

Após o exercício (figura 6B), a glicemia foi maior no grupo TEC (175mg/dL) comparado com o TNC (125mg/dL) ( $p = 0,028$ ), no grupo TEC comparado com o grupo SEC ( $p = 0,007$ ) e no grupo TEC valores 38 % maiores quando comparados com os do grupo TES ( $p = 0,018$ ).

## **DISCUSSÃO**

Este estudo demonstrou que o treinamento em ratos aumenta a concentração de glicogênio hepático, como já demonstrado em outros estudos (23, 24, 30).

Ratos exercitados com suplementação de carboidrato (figura 3) apresentaram valores de glicogênio hepático mais elevados que aqueles exercitados sem suplementação. Em níveis elevados, a glicose sérica é utilizada para a síntese de glicogênio, ainda que em exercício físico (31). Por esta razão, a ingestão de carboidratos na forma líquida possibilita rendimento constante de atletas de alto nível em provas que envolvem diversas horas consecutivas trabalho muscular intenso (9).

A diferença no glicogênio hepático entre os grupos TNS x TES e SNS x SES sugere que o exercício intermitente é uma forma de recrutamento muscular que propicia grande gasto de glicogênio hepático principalmente quando realizado apenas com a ingestão de água (9, 32). No entanto, conforme demonstrado nas figuras 2A e 2B, esta rápida redução da concentração de glicogênio hepático é inibida pelos aumentos da glicose circulante (TEC x TES, SEC x SES)(12).

O estímulo fisiológico do exercício intenso induz um mecanismo para rápida e marcante estimulação da oxidação dos substratos exógenos (provenientes da suplementação) (33). Desta forma, a administração de glicose promoveria a manutenção das reservas de glicogênio intra-hepáticas (34). Não houve diferença entre TNC e TEC, demonstrando menor utilização de glicogênio hepático com a suplementação oral de glicose (Figura 2A)(23).

De modo similar, o glicogênio muscular foi preservado tanto em ratos treinados quanto em sedentários quando suplementados com fonte exógena de glicose (TEC x TES, SEC x SES). Com uma hiperglicemia gerada pela suplementação há uma aumentada oxidação da glicose circulante e isto provavelmente desvie os percentuais de oxidação em direção à diminuição da glicemia (35). Isto levaria a uma priorização do gasto circulante e assim, à economia dos estoques intramusculares de glicogênio (36).

Uma concentração maior de glicogênio muscular em TNC quando comparados com o grupo SNC (Figura 3) indica aumento da capacidade de armazenamento total nos treinados (36). A menor utilização do glicogênio muscular, propiciada pela utilização da glicose administrada via oral, é particularmente importante para o desempenho em ciclos de exercícios breves, repetitivos e extenuantes, como o futebol e o basquete (9).

O nível sérico de lactato foi avaliado imediatamente antes (Figura 5A) e após 30 minutos de exercício intermitente (Figura 5B). Após o exercício foi encontrada uma diferença significativa entre o lactato sanguíneo em SNS x SES e SNC x SEC, mas não houve esta significância ao compararem-se os ratos treinados TNS x TES e

TNC x TEC. Diferentemente, em outros estudos foram verificados valores mais altos de lactato em sessões de alta intensidade intercaladas com períodos de recuperação (13, 37). Neste estudo foi verificada uma capacidade elevada em ratos treinados de oxidar mais lactato sangüíneo ou de produzir menos lactato apesar das mesmas intensidades relativas. É possível que o treinamento module fatores hormonais que minimizem estes aumentos. As catecolaminas plasmáticas podem estar associadas ao aumento nos níveis de lactato verificado nos ratos sedentários no fim do exercício, já que sua elevação está bem estabelecida em outros estudos. Estes aumentos ocorridos no início de período de exercício podem refletir um componente estressor do exercício em esteira nestes ratos. (17, 38).

Ratos treinados, exercitados e suplementados via oral com carboidrato (TEC) tiveram glicemias diferentes de ratos do grupo TES, do grupo TNC e do grupo SEC. A diferença entre os grupos TEC e TES era esperada de aumento dos níveis de glicemia, visto que estes ratos receberam suplementação de glicose (39, 40). Esta diferença não ocorreu para os ratos sedentários, o que pode ser indício de uma oxidação menor de substratos em ratos treinados, o qual propicia recrutamento de menor número de fibras e menor gasto de ATP (10, 11). A diferença entre os grupos TEC e TNC também pode representar uma maior capacidade de disponibilização de glicose em treinados quando existem elevadas necessidades metabólicas (12), no entanto, mais estudos são necessários para comprovar esta hipótese.

## **Conclusão**

Ratos sedentários tiveram um maior aumento dos níveis de lactato, enquanto o exercício físico intermitente preveniu o acúmulo de lactato em ratos treinados.

O exercício físico intermitente associado à suplementação de glicose torna-se eficiente na manutenção da glicemia.

O treinamento físico produz um aumento nas concentrações musculares e hepáticas de glicogênio. Isto sugere que a glicose exógena administrada durante o exercício promoveu uma menor utilização destas fontes.

A compreensão do metabolismo de carboidratos durante o exercício propiciará o desenvolvimento de estratégias para melhora da performance muscular.

## REFERÊNCIAS

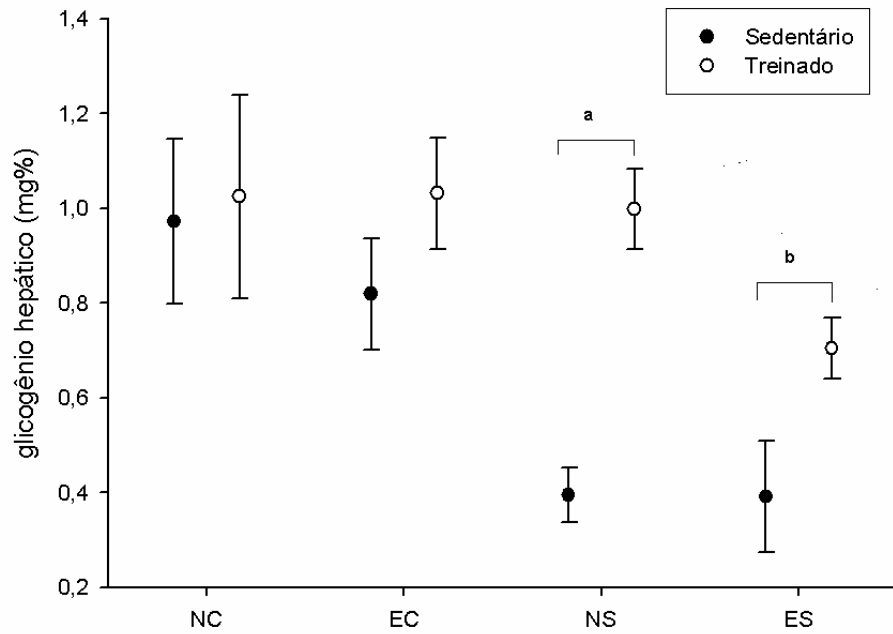
1. Hoppeler H, Billeter R. Conditions for oxygen and substrate transport in muscles in exercising mammals. *J Exp Biol* 1991;160:263-83.
2. Juel C. Lactate-proton cotransport in skeletal muscle. *Physiol Rev* 1997;77(2):321-58.
3. Robergs RA, Ghiasvand F, Parker D. Biochemistry of exercise-induced metabolic acidosis. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2004;287(3):R502-16.
4. Burke LM, Loucks AB, Broad N. Energy and carbohydrate for training and recovery. *J Sports Sci* 2006;24(7):675-85.
5. Jeukendrup AE, Wallis GA. Measurement of substrate oxidation during exercise by means of gas exchange measurements. *Int J Sports Med* 2005;26 Suppl 1:S28-37.
6. Manetta J, Brun JF, Prefaut C, Mercier J. Substrate oxidation during exercise at moderate and hard intensity in middle-aged and young athletes vs sedentary men. *Metabolism* 2005;54(11):1411-9.
7. Achten J, Jeukendrup AE. Optimizing fat oxidation through exercise and diet. *Nutrition* 2004;20(7-8):716-27.
8. Slentz CA, Aiken LB, Houmard JA, Bales CW, Johnson JL, Tanner CJ, et al. Inactivity, exercise, and visceral fat. STRRIDE: a randomized, controlled study of exercise intensity and amount. *J Appl Physiol* 2005;99(4):1613-8.
9. Glaister M. Multiple sprint work: physiological responses, mechanisms of fatigue and the influence of aerobic fitness. *Sports Med* 2005;35(9):757-77.
10. Coyle EF. Physical activity as a metabolic stressor. *Am J Clin Nutr* 2000;72(2 Suppl):512S-20S.
11. Krustup P, Soderlund K, Mohr M, Bangsbo J. The slow component of oxygen uptake during intense, sub-maximal exercise in man is associated with additional fibre recruitment. *Pflugers Arch* 2004;447(6):855-66.
12. De Feo P, Di Loreto C, Lucidi P, Murdolo G, Parlanti N, De Cicco A, et al. Metabolic response to exercise. *J Endocrinol Invest* 2003;26(9):851-4.
13. Brooks GA. Lactate shuttles in nature. *Biochem Soc Trans* 2002;30(2):258-64.
14. Tremblay F, Dubois MJ, Marette A. Regulation of GLUT4 traffic and function by insulin and contraction in skeletal muscle. *Front Biosci* 2003;8:d1072-84.
15. Lavoie C. Glucagon receptors: effect of exercise and fasting. *Can J Appl Physiol* 2005;30(3):313-27.
16. Lange KH. Fat metabolism in exercise--with special reference to training and growth hormone administration. *Scand J Med Sci Sports* 2004;14(2):74-99.
17. Watt MJ, Howlett KF, Febbraio MA, Spriet LL, Hargreaves M. Adrenaline increases skeletal muscle glycogenolysis, pyruvate dehydrogenase activation and carbohydrate oxidation during moderate exercise in humans. *J Physiol* 2001;534(Pt 1):269-78.
18. Bolster DR, Jefferson LS, Kimball SR. Regulation of protein synthesis associated with skeletal muscle hypertrophy by insulin-, amino acid- and exercise-induced signalling. *Proc Nutr Soc* 2004;63(2):351-6.
19. Louis-Sylvestre J. [Insulin and physical exercise]. *Diabete Metab* 1987;13(2):152-6.
20. Pagnotta A, Milligan CL. The role of blood glucose in the restoration of muscle glycogen during recovery from exhaustive exercise in rainbow trout (*Oncorhynchus*

- mykiss) and winter flounder (*Pseudopleuronectes americanus*). *J Exp Biol* 1991;161:489-508.
21. Billat VL, Sirvent P, Py G, Koralsztein JP, Mercier J. The concept of maximal lactate steady state: a bridge between biochemistry, physiology and sport science. *Sports Med* 2003;33(6):407-26.
  22. Rao J, Oz G, Seaquist ER. Regulation of cerebral glucose metabolism. *Minerva Endocrinol* 2006;31(2):149-58.
  23. Hargreaves M. Muscle glycogen and metabolic regulation. *Proc Nutr Soc* 2004;63(2):217-20.
  24. Fournier PA, Brau L, Ferreira LD, Fairchild T, Raja G, James A, et al. Glycogen resynthesis in the absence of food ingestion during recovery from moderate or high intensity physical activity: novel insights from rat and human studies. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol* 2002;133(3):755-63.
  25. Piziak VK. Medical management of obesity. *Compr Ther* 1991;17(3):54-9.
  26. Zarzeczny R, Langfort J, Pilis W, Nazar K, Kaciuba-Uscilko H, Porta S. Effect of sustained adrenergic receptors stimulation and blockade on lactate threshold in rats. *J Sports Med Phys Fitness* 2001;41(3):324-9.
  27. Dascombe BJ, Reaburn PR, Sirotic AC, Coutts AJ. The reliability of the i-STAT clinical portable analyser. *J Sci Med Sport* 2006.
  28. Lavoie J-M, Fillion Y, Couturier K, Corriveau P. Exercise Effects on Muscle Insulin Signaling and Action: Selected Contribution: Evidence that the decrease in liver glycogen is associated with the exercise-induced increase in IGF1. *J Appl Physiol* 2002;93(2):798-804.
  29. Krisman CR. A method for the colorimetric estimation of glycogen with iodine. *Anal Biochem* 1962;4:17-23.
  30. Ivy JL. Muscle glycogen synthesis before and after exercise. *Sports Med* 1991;11(1):6-19.
  31. Tabata I, Irisawa K, Kouzaki M, Nishimura K, Ogita F, Miyachi M. Metabolic profile of high intensity intermittent exercises. *Med Sci Sports Exerc* 1997;29(3):390-5.
  32. Drust B, Reilly T, Cable NT. Physiological responses to laboratory-based soccer-specific intermittent and continuous exercise. *J Sports Sci* 2000;18(11):885-92.
  33. Welsh RS, Davis JM, Burke JR, Williams HG. Carbohydrates and physical/mental performance during intermittent exercise to fatigue. *Med Sci Sports Exerc* 2002;34(4):723-31.
  34. Tsintzas K, Simpson EJ, Seevaratnam N, Jones S. Effect of exercise mode on blood glucose disposal during physiological hyperinsulinaemia in humans. *Eur J Appl Physiol* 2003;89(2):217-20.
  35. Tsintzas OK, Williams C, Boobis L, Greenhaff P. Carbohydrate ingestion and glycogen utilization in different muscle fibre types in man. *J Physiol* 1995;489 (Pt 1):243-50.
  36. Tsintzas K, Williams C. Human muscle glycogen metabolism during exercise. Effect of carbohydrate supplementation. *Sports Med* 1998;25(1):7-23.
  37. Gleeson TT. Post-exercise lactate metabolism: a comparative review of sites, pathways, and regulation. *Annu Rev Physiol* 1996;58:565-81.
  38. McAllister RM. Adaptations in control of blood flow with training: splanchnic and renal blood flows. *Med Sci Sports Exerc* 1998;30(3):375-81.

39. Coggan AR, Coyle EF. Effect of carbohydrate feedings during high-intensity exercise. *J Appl Physiol* 1988;65(4):1703-9.
40. Jeukendrup AE. Carbohydrate intake during exercise and performance. *Nutrition* 2004;20(7-8):669-77.



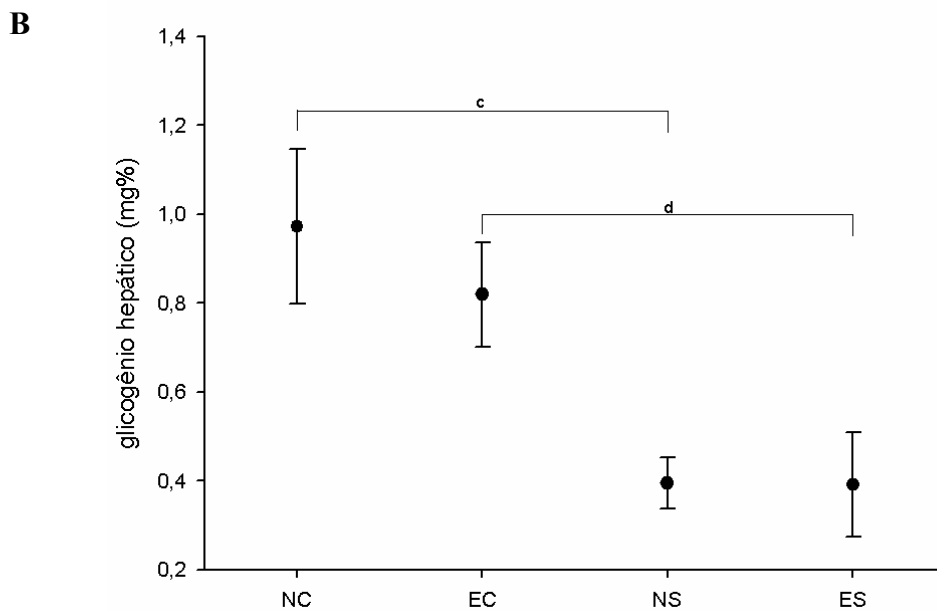
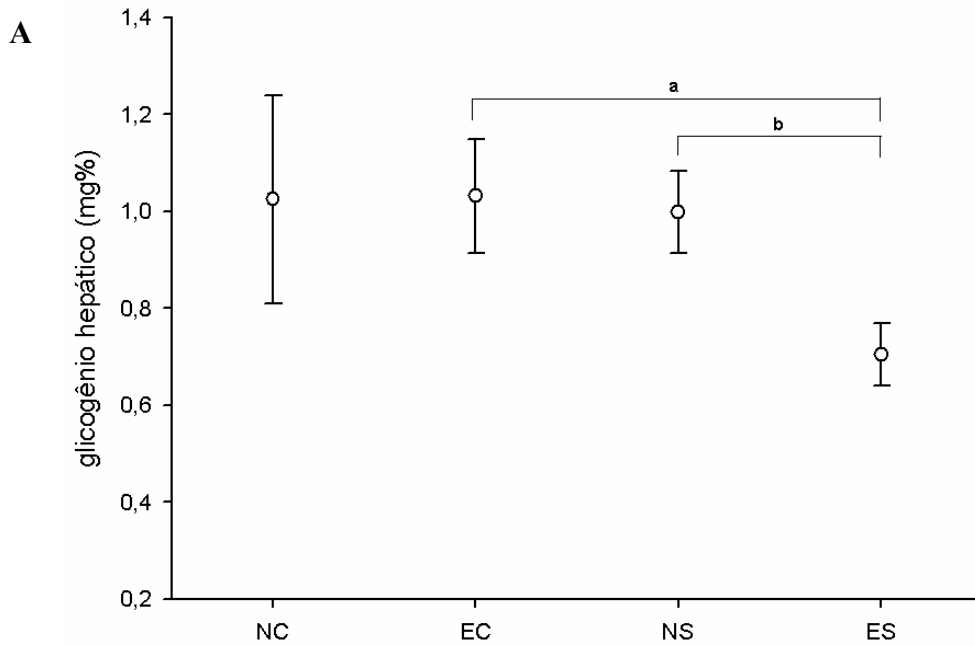
Figura 1



<sup>a</sup> diferença entre grupos sedentário e treinado exercitados sem carboidrato  $p < 0,001$ .

<sup>b</sup> diferença entre grupos sedentários e treinados não exercitados sem carboidrato  $p = 0,007$ .

Figura 2



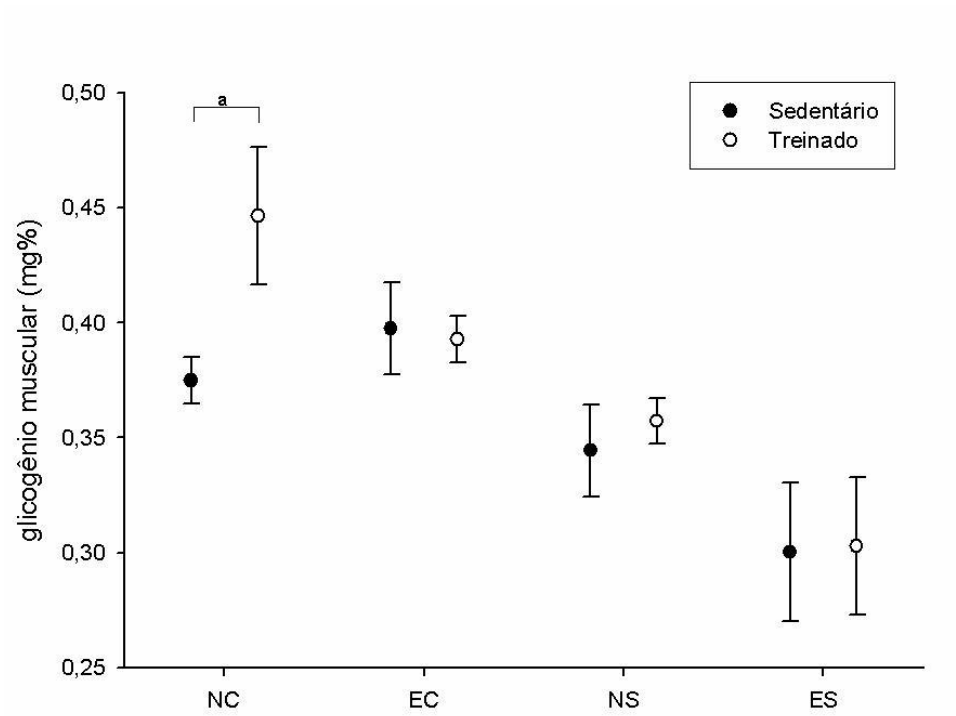
<sup>a</sup>diferença entre grupos treinados exercitados com e sem carboidrato  $p = 0,007$ .

<sup>b</sup>diferença entre grupos treinados não exercitados e exercitados sem carboidrato  $p = 0,022$ .

<sup>c</sup>diferença entre grupos sedentários não exercitados com e sem carboidrato  $p < 0,001$ .

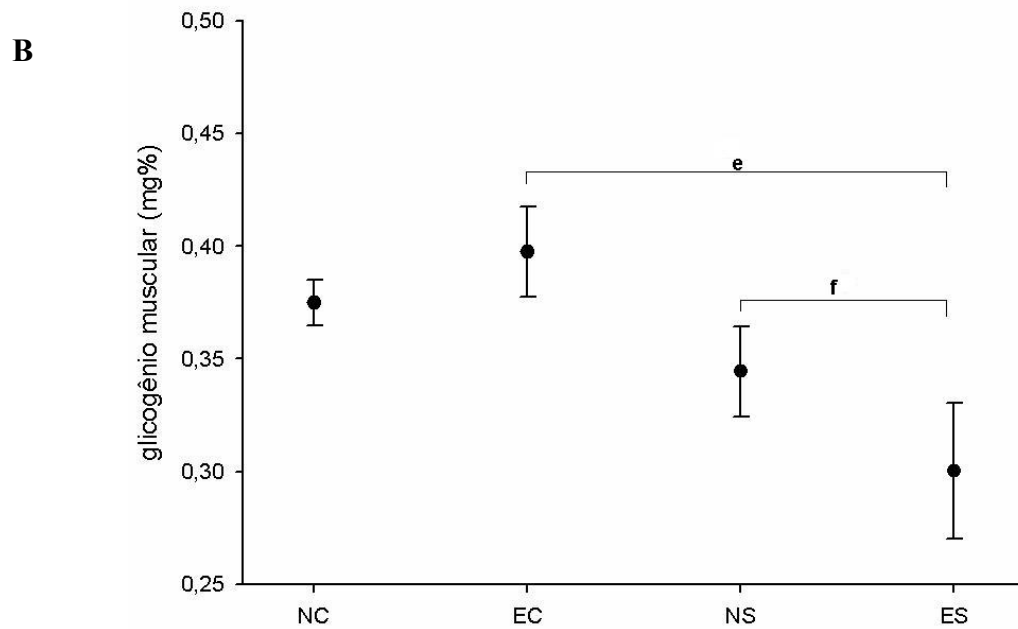
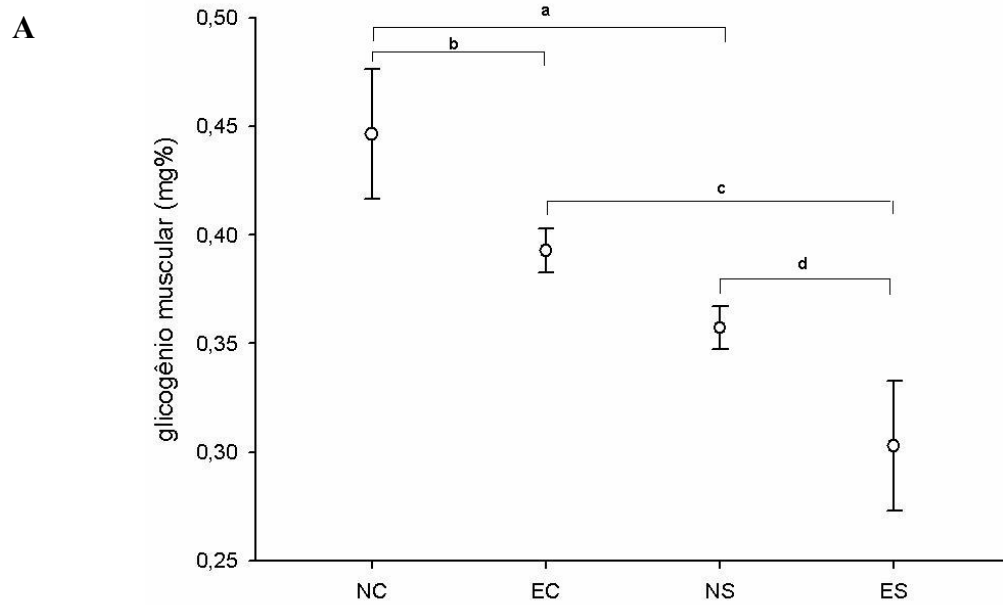
<sup>d</sup>diferença entre grupos sedentários exercitados com e sem carboidrato  $p = 0,001$ .

Figura 3



<sup>a</sup>diferença entre grupos treinados e sedentários não exercitados com carboidrato  $p < 0,001$ .

Figura 4



<sup>a</sup> diferença entre grupos treinados não exercitados com e sem carboidrato  $p < 0,001$ .

<sup>b</sup> diferença entre grupos treinados não exercitados e exercitados com carboidrato  $p = 0,003$ .

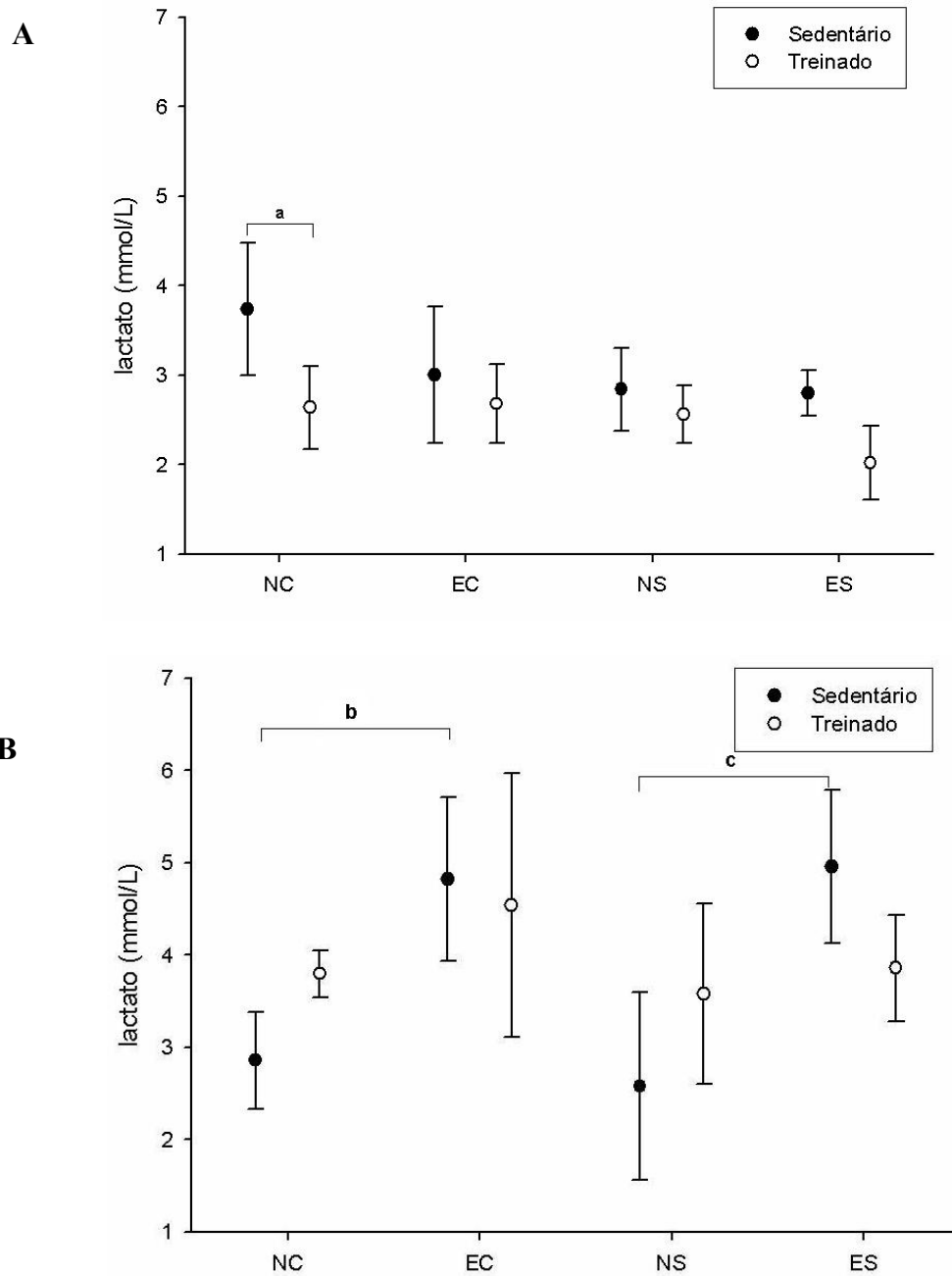
<sup>c</sup> diferença entre grupos treinados exercitados com e sem carboidrato,  $p < 0,001$ .

<sup>d</sup> diferença entre grupos treinados exercitados e não exercitados sem carboidrato,  $p = 0,002$ .

<sup>e</sup> diferença entre grupos sedentários exercitados com e sem carboidrato  $p < 0,001$ .

<sup>f</sup> diferença entre grupos sedentários exercitados e não exercitados sem carboidrato  $p = 0,021$ .

Figura 5

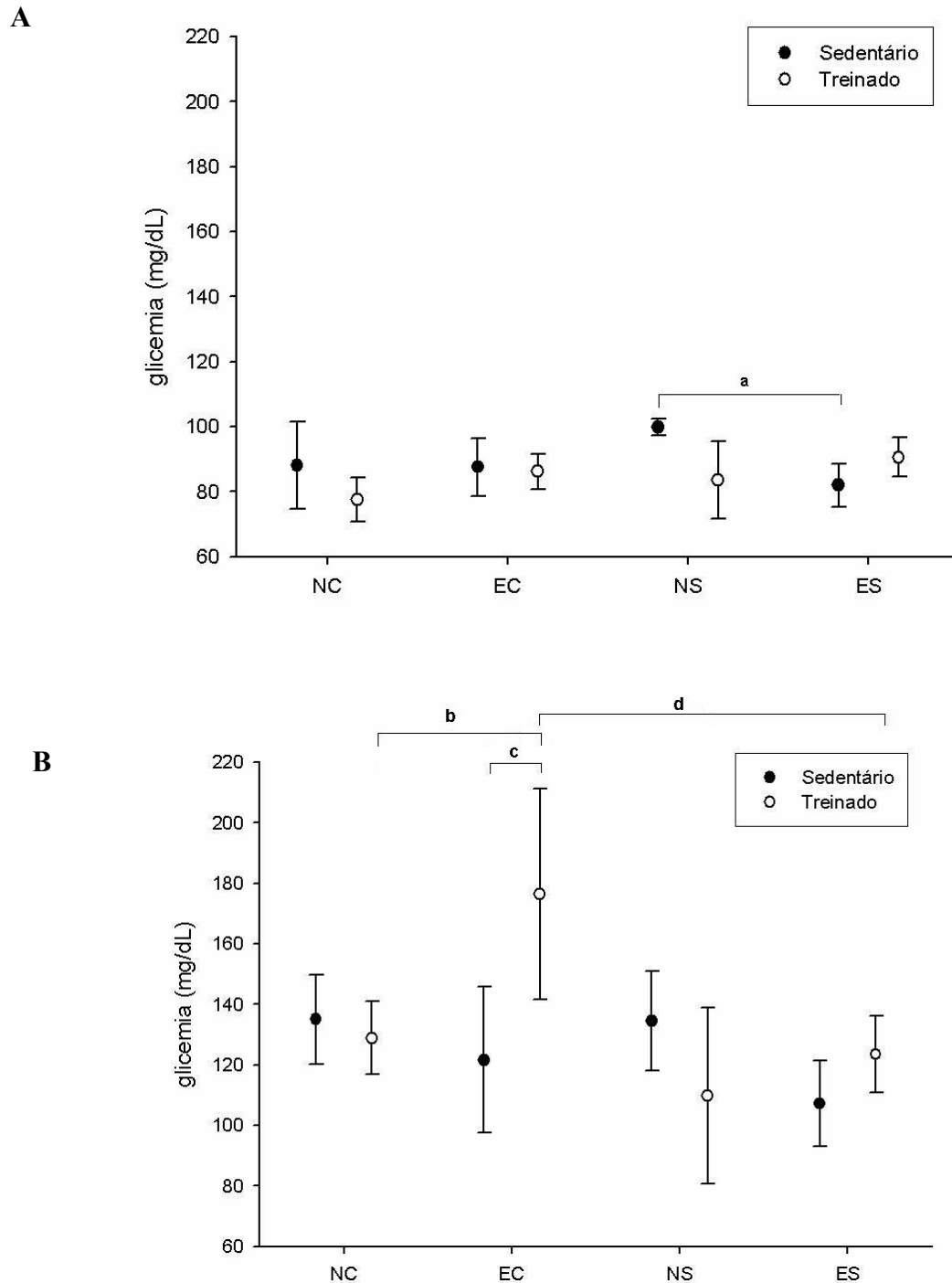


<sup>a</sup>diferença entre grupos treinados e sedentários não exercitados com carboidrato  $p = 0,034$ .

<sup>b</sup>diferença entre grupos sedentários exercitados e não exercitados com carboidrato  $p < 0,026$ .

<sup>c</sup>diferença entre grupos sedentários exercitados e não exercitados sem carboidrato  $p = 0,004$ .

Figura 6



<sup>a</sup> diferença entre grupos sedentários exercitados e não exercitados sem carboidrato  $p < 0,027$ .

<sup>b</sup> diferença entre grupos treinados exercitados e não exercitados com carboidrato  $p = 0,028$ .

<sup>c</sup> diferença entre grupos treinados e sedentários exercitados com carboidrato  $p = 0,007$ .

<sup>d</sup> diferença entre grupos treinados exercitados com e sem carboidrato,  $p = 0,018$ .

## **Legenda Figuras**

### **Figura 1**

Glicogênio hepático após exercício. (NC = não exercitado com carboidrato; EC = exercitado com carboidrato; NS = não exercitado sem carboidrato; ES = exercitado sem carboidrato)

### **Figura 2**

(A) Glicogênio hepático em ratos treinados; (B) Glicogênio hepático em ratos sedentários.

### **Figura 3**

Glicogênio muscular após exercício.

### **Figura 4**

(A) Glicogênio muscular em ratos treinados; (B) Glicogênio muscular em ratos sedentários

### **Figura 5**

Lactato antes (A) e depois (B) do exercício. Como os valores de lactato antes do exercício foram diferentes entre os grupos mostrados, foi feita uma análise de covariância com ajuste das médias pelos valores antes do exercício.

### **Figura 6**

Glicemia antes (A) e depois (B) do exercício.

**ARTIGO EM INGLÊS****Effects of carbohydrate supplementation during high intensity  
intermittent exercise on glucose metabolism in rats**

GIESEL VT<sup>1</sup>, RECHE M<sup>2</sup>, SCHNEIDER L<sup>1</sup>, ARAÚJO L<sup>1,3</sup>, CORLETA HV<sup>2,3,4</sup>, CAPP  
E<sup>1,2,3,4</sup>

<sup>1</sup>Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Fisiologia, Departamento de Fisiologia, Instituto de Ciências Básicas da Saúde; <sup>2</sup>Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil; <sup>3</sup>Depto. de Ginecologia e Obstetrícia; <sup>4</sup>Núcleo Gerar de Reprodução Assistida, Hospital Moinhos de Vento, Porto Alegre, RS, Brasil

Address:

Edison Capp

Rua Dr. Barros Cassal, 411/22

CEP 90035 003 - Porto Alegre, RS

edcapp@ufrgs.br

FAX: 051 3311 6588



## ABSTRACT

**INTRODUCTION:** The effects of carbohydrate ingestion during exercise have been of great interest. **OBJECTIVE:** The goal of this investigation was to analyze the association between glucose infusion during the practice of an intermittent physical exercise and the alterations in glycogen, lactate and glicemia of rats. **METHODS:** 40 male rats with 60 days were divided in 8 groups based on exercise and carbohydrate intake (glucose 20% before exercise): TEC (trained exercised with carbohydrate), TES (trained exercised without carbohydrate), TNC (trained non-exercised with carbohydrate), TNS (trained non-exercised without carbohydrate), SEC (untrained exercised with carbohydrate), SES (untrained exercised without carbohydrate), SNC (untrained non-exercised with carbohydrate), SNS (untrained non-exercised without carbohydrate). The protocol consisted in 1 minute running above lactate threshold based on lactate loop and 30 seconds running below it, 30 minutes, in a treadmill. Blood was taken to measure glicemia and lactate before (T1) and after exercise (T2) and glycogen after (T2). **RESULTS:** data considering glicemia did showed significant increase in groups TEC, TNC, SEC e SNC in T2 compared to T1. Lactate showed significant higher levels in T2 than T1 but remains within lactate threshold. Glycogen showed higher concentrations in trained and, despite trained or not, in supplemented groups. **CONCLUSION:** Intermittent physical exercise is great in preventing trained lactate pool and in association with glucose supplementation it will be efficient to maintain sufficient glicemia levels either. Training is efficient in storing more glycogen and exogenous glucose during that can be a good form of sparing endogenous sources.

**Keywords:** exercise, intermittent, glucose, lactate, glycogen.

## INTRODUCTION

The effects of carbohydrate ingestion during exercise have been of great interest. It is an agreement that, in exercise, there is a loop of lactate production in high intensity exercise and maintenance when it is done below lactate threshold (1-3). The predominant way of exercising in clubs and sports is intermittent exercise. There is a growing interest in studying which are the responses this type of exercise, which consists in high intensity exercises matched with low intensity ones and particularly the biochemical effects of it after glucose supplementation.

The importance of the multiple regulators of energy-fuel sources during exercise, either endocrine or metabolic products, varies with the intensity of exercise (4). When exercising at lower intensities, regarding glucoregulation, signals generated from the muscle are translated into changes in hormonal secretion like insulin (5), glucagon (6), GH (7) and catecholamines (8). From those results an increase in catabolic/anabolic ratio that favor increased catabolism. However, in intense exercise [ $>80\%$  of maximal  $O_2$  uptake ( $VO_{2\ max}$ )] in human subjects, the substrate oxidation rises so much, primarily glucose oxidation, that all endocrine changes together seem do be poor in explaining this exacerbate relations (9, 10). During exercise, plasma insulin either remains constant or declines slightly (11, 12). Glucagon increases less than twofold (6).

During rest, the major part of substrate oxidation is assigned to the oxidation of lipids. Thus, changes in carbohydrate oxidation, even different from zero, represent only a small portion of total energy expenditure (13, 14). During this period there are derisive changes in lactate oxidation and in lactate and glucose levels. However,

during moderate and greater intensity exercise, progressively more muscle fibers are necessary with a greater percentage of Type II fibers being recruited and thus substrate-specific changes in carbohydrate oxidation become pronounced (15, 16). This substrate exchange, because of the rise in metabolic rates, has now a new circulating fuel, which is produced more intensively at high exercise intensities and has been proving to be of great functionality as an energy substrate: lactate (1, 17).

There is a significant stabilization in glucose oxidation that is matched by an increase in lactate oxidation. On intermittent exercise, peaks of high intensity bouts are interchanged with low intensity bouts of exercise (18) and, assuming lactate is the major carbon source for glycogen synthesis at this metabolic moment (Cori cycle), in low bouts this lesser whole oxidation of lactate and of glucose derived from lactate might allow for an increased proportion of lactate converted into muscle glycogen (Cori cycle) after the second bout of exercise. This lead us to conclude that during increased carbohydrate demands (high intensity exercise), lactate can spare blood glucose for tissues such as the brain (19)

Many consecutive days of intense exercise without consuming a diet containing high amounts of carbohydrate can severely diminish muscle glycogen stores (20, 21). Intensified training consuming large amounts of carbohydrate seemed to let individuals able to perform the prescribed training more easily (20, 21).

Besides that, changes in mood state are frequent in low or moderate carbohydrate consumers (22, 23). Low muscle glycogen concentrations are likely to be associated with fatigue, decreased performance and even overtraining (10). However, from years it has been shown that muscle and liver glycogen stores could be manipulated

by dietary and by training interventions (32). Instead of these investigations, few studies have looked for the effects of different dietary strategies on glycogen availability during training.

The goal of this investigation was to analyze the association between the infusion of glucose in solution during the practice of an intermittent physical exercise and the alterations in lactate, glicemia and glycogen in rats.

## **METHODS**

Forty male Wistar rats with 60 days old (masses between 328 and 397g) in the beginning of treatment were used in the experiments. They were acclimated for 2 weeks in an ambient temperature of 25° with an inverted light/dark cycle of 12h/12h and maintained on rat food and tap water ad libitum. They were divided in 8 groups after adaptation protocol (one week) based on training and carbohydrate (glucose 20% before exercise). The habituation running protocol held on 5 consecutive days for 10, 15, 20, 25 30 minutes on a treadmill, respectively. The groups were: TEC (trained exercised with carbohydrate), TES (trained exercised without carbohydrate), TNC (trained non-exercised with carbohydrate), TNS (trained non-exercised without carbohydrate), SEC (untrained exercised with carbohydrate), SES (untrained exercised without carbohydrate), SNC (untrained non-exercised with carbohydrate), SNS (untrained non-exercised without carbohydrate). Training consisted of 3 months of intermittent exercise (always in the dark), five days a week and 30-minutes/day. Those from untrained groups suffered the same process but with treadmill turned off. On the day of experiments the protocol consisted in an 1(one) minute running above

lactate threshold based on lactate loop (previously tested) and 30 seconds running below it, intermittently, during 30 minutes in a treadmill. Blood was taken from tail to measure glicemia (Accutrend Kit) and Lactate (Accusport) before (T1) and after the exercise (T2). Some rats that were not in supplemented group received water (1mL). All rats were gaining weight before inclusion in the study and the mass presented refers to the last day. On the day of the experiment, food was removed from cages of all rats at 7:00 AM, and the exercise tests were run between 8:00 AM and 12:00 AM.

The sample size of 5 rats in each group was determined according to the paper of Lavoie, Fillion et al. (24) considering a sample power of 80%, and  $p < 0,05$ , using the software Pepi 3.0.

Immediately after measurement of plasma glucose and lactate concentrations, it was made the oral gavage of glucose or water. At the end of the exercise period, another lactate and glicemia measurement was done and the animals were rapidly taken out of the treadmill and quickly submitted to a cervical disruption. Immediately thereafter, the abdominal cavity was opened and a small piece of liver from the left lobe was frozen cooled to liquid nitrogen temperature and it was taken a small piece of gastrocnemius muscle either, after that both were stored in  $-80^{\circ}\text{C}$ . Krisman protocol was used to measure glycogen (25).

This study was approved by the Ethics Committee of Universidade Federal do Rio Grande do Sul and was carried out in accordance with the National Institutes of Health (NIH) Guide for the Care and Use of Laboratory Animals.

## **STATISTICS**

ANOVA were used to analyze results and after that it was done a Tukey post-hoc test for multiple analysis. Statistical significance was given to  $p < 0,005$ .

## **RESULTS**

### **Hepatic glycogen**

The hepatic glycogen of rats after 30 minutes of intermittent exercise when compared untrained versus trained showed difference from TNS to SNS  $p < 0,001$ ; from SES to TES  $p = 0,007$  (figure 1). However, when analyzing separated, differences are shown between TEC to TES  $p = 0,007$ ; TNS to TES  $p = 0,022$  in trained rats (figure 2A) and between SNC to SNS  $p < 0,001$ ; TEC to TES  $p = 0,001$  (figure 2B).

### **Muscular glycogen**

Muscular glycogen showed, when taken together untrained versus trained, difference after 30 minutes of exercise between TNC to SNC  $p < 0,001$  (figure 3).

Analyzing separately (figure 4A) there is difference between TNC to TNS  $p < 0,001$ ; TNC and TEC  $p = 0,003$ ; TEC and TES  $p < 0,001$ ; TNS to TES  $p = 0,002$ . Figure 4B shows that SEC has higher levels of glycogen than SES  $p < 0,001$  and SNS more than to SES ( $p = 0,021$ ).

### **Lactate**

Blood lactate before exercise (figure 5A) showed significance only between TNC and SNC ( $p = 0,034$ ). Taking into account that the exercise was not done in this moment yet, so this difference wouldn't be expected and this could give an error in final result. To correct this, it was done a covariance analysis to correct the medians by time zero. And after 30 minutes of exercise (figure 5B) differences are seen between SNC and SEC ( $p = 0,026$ ) and SNS and SES ( $p = 0,004$ ).

### **Glicemia**

Glicemia before exercise (figure 6A) was higher in SNS group than SES ( $p = 0,027$ ). Glucose gavage was not done yet. To correct this unexpected difference, it was done a covariance analysis to correct the medians by time zero

After exercise (figure 6B) glicemia was higher in TEC group compared to TNC ( $p = 0,028$ ); TEC group compared to SEC ( $p = 0,007$ ) and TEC group compared to TES ( $p = 0,018$ ).

### **DISCUSSION**

This study has shown that training lead to a highest liver glycogen concentration that is in accordance to other researchers.

Rats exercised with carbohydrate supplementation (figure 3) presented highest liver glycogen values than those trained without glycogen. On higher levels blood glucose is used for liver glycogen synthesis, even in exercise (26). For this reason, carbohydrates ingested in solution during exercise ensure performance n high levels athletes with several hours of intense muscular work (18).

Hepatic glycogen difference between TNS x TES and SNS x SES groups suggests that intermittent exercise is a muscle recruitment way that wastes high amounts of hepatic glycogen principally when only water is ingested (18, 27). However, Figures 2A and 2B shows that this faster reduction is inhibited by highest circulating glucose levels (TEC x TES, SEC x SES) (28).

Physiological stimulus of high intensity exercise leads to a faster way of oxidating exogenous substrates (supplementation) (29). Considering this, glucose administered could ensure the maintenance of liver glycogen storage (30). Figure 2A shows the condition of sparing glycogen with oral supplementation since TNC and TEC didn't show significance (21).

In a similar way, muscle glycogen was spared when supplemented with exogenous glucose (TEC x TES, SEC x SES). With prior hyperglycemia there is an enhanced circulating glucose, which in turn promotes minimizing glicemia (31). Furthermore, the fact that more circulating glucose is used by muscle during this kind of exercise and early recovery suggest that muscle glycogen is spared (32).

The difference between TNC group and SNC (figure 4A) can be a role of the whole rise of storage that is generated by an increase in training levels (32). This would be particularly important to performance in brief, repetitive bouts of strenuous exercise, such as in sports like soccer or basketball (18).

Blood lactate was measured before exercise (figures 5A) and after that (figure 5B) After exercise it was found a difference between blood lactate in SNS x SES and SNC x SEC, but it isn't statistical between TNS x TES and TNC x TEC. These values are in contrast with the great majority of studies that shows peaks of exercise above



lactate threshold giving bigger values of it (17, 33). In this study, it was found high capacity of trained rats in oxidate blood lactate or in producing less of it instead of same relative intensities. In the present study, it cannot be excluded that plasma catecholamines may be associated with the increase in lactate levels measured in untrained at the end of exercise, since it is elevated in exercise (8, 34).

Trained, exercised and supplemented rats (TEC) (figure 6A) had differences from those rats from TES group, from TNC and from SEC in glicemia. The first difference (TEC x TES) show a waited response of rising glicemia levels with supplementation(35, 36). This difference didn't appear in untrained rats, wich can be an indicative from lesser substrate oxidation in trained, which in turn could mean a lesser fiber recruitment and lesser ATP waste (15, 16). In the second case there is a bigger rise in glicemia of TEC than non-exercising TNC, this point can be showing the greater capacity of glucose disposal in trained when there are elevated metabolic needs (37).

**CONCLUSION:**

Untrained rats showed higher increases in blood lactate levels, while intermittent exercise prevented lactate peak.

Intermittent exercise with glucose supplementation is efficient in maintenance of glycemia.

Training leads to high levels of hepatic and muscle glycogen concentrations. It is suggested that exogenous glucose promoted a spare effect on these sources.

The accurate knowledge of glucose metabolism will lead us to develop better strategies for muscle performance.

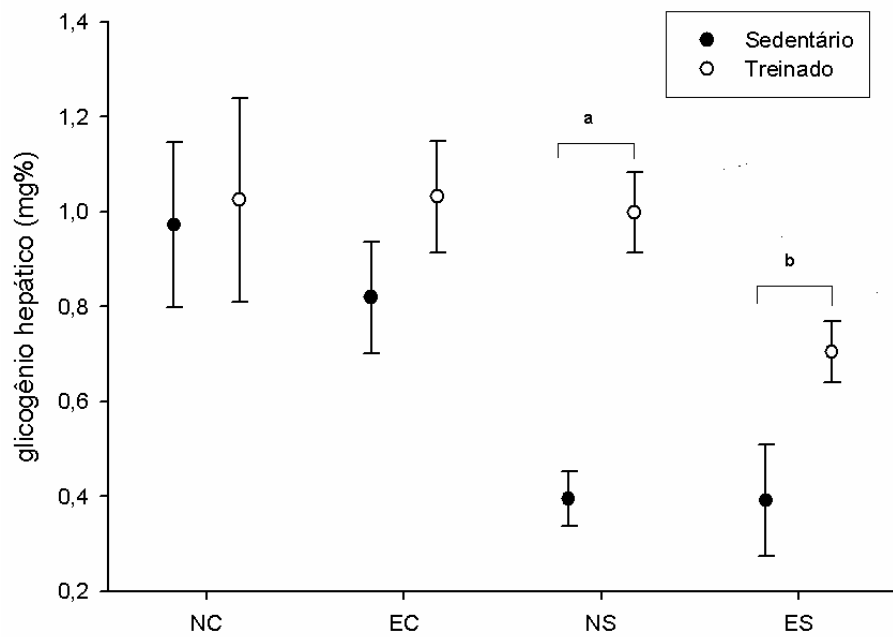
**REFERENCES:**

1. Robergs RA, Ghiasvand F, Parker D. Biochemistry of exercise-induced metabolic acidosis. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2004;287(3):R502-16.
2. Hoppeler H, Billeter R. Conditions for oxygen and substrate transport in muscles in exercising mammals. *J Exp Biol* 1991;160:263-83.
3. Juel C, Klarskov C, Nielsen JJ, Krstrup P, Mohr M, Bangsbo J. Effect of high-intensity intermittent training on lactate and H<sup>+</sup> release from human skeletal muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2004;286(2):E245-51.
4. Burke LM, Loucks AB, Broad N. Energy and carbohydrate for training and recovery. *J Sports Sci* 2006;24(7):675-85.
5. Tremblay F, Dubois MJ, Marette A. Regulation of GLUT4 traffic and function by insulin and contraction in skeletal muscle. *Front Biosci* 2003;8:d1072-84.
6. Lavoie C. Glucagon receptors: effect of exercise and fasting. *Can J Appl Physiol* 2005;30(3):313-27.
7. Lange KH. Fat metabolism in exercise--with special reference to training and growth hormone administration. *Scand J Med Sci Sports* 2004;14(2):74-99.
8. Watt MJ, Howlett KF, Febbraio MA, Spriet LL, Hargreaves M. Adrenaline increases skeletal muscle glycogenolysis, pyruvate dehydrogenase activation and carbohydrate oxidation during moderate exercise in humans. *J Physiol* 2001;534(Pt 1):269-78.
9. Jeukendrup AE, Wallis GA. Measurement of substrate oxidation during exercise by means of gas exchange measurements. *Int J Sports Med* 2005;26 Suppl 1:S28-37.
10. Manetta J, Brun JF, Prefaut C, Mercier J. Substrate oxidation during exercise at moderate and hard intensity in middle-aged and young athletes vs sedentary men. *Metabolism* 2005;54(11):1411-9.
11. Bolster DR, Jefferson LS, Kimball SR. Regulation of protein synthesis associated with skeletal muscle hypertrophy by insulin-, amino acid- and exercise-induced signalling. *Proc Nutr Soc* 2004;63(2):351-6.
12. Louis-Sylvestre J. [Insulin and physical exercise]. *Diabete Metab* 1987;13(2):152-6.
13. Achten J, Jeukendrup AE. Optimizing fat oxidation through exercise and diet. *Nutrition* 2004;20(7-8):716-27.
14. Slentz CA, Aiken LB, Houmard JA, Bales CW, Johnson JL, Tanner CJ, et al. Inactivity, exercise, and visceral fat. STRRIDE: a randomized, controlled study of exercise intensity and amount. *J Appl Physiol* 2005;99(4):1613-8.

15. Coyle EF. Physical activity as a metabolic stressor. *Am J Clin Nutr* 2000;72(2 Suppl):512S-20S.
16. Krstrup P, Soderlund K, Mohr M, Bangsbo J. The slow component of oxygen uptake during intense, sub-maximal exercise in man is associated with additional fibre recruitment. *Pflugers Arch* 2004;447(6):855-66.
17. Brooks GA. Lactate shuttles in nature. *Biochem Soc Trans* 2002;30(2):258-64.
18. Glaister M. Multiple sprint work: physiological responses, mechanisms of fatigue and the influence of aerobic fitness. *Sports Med* 2005;35(9):757-77.
19. Rao J, Oz G, Seaquist ER. Regulation of cerebral glucose metabolism. *Minerva Endocrinol* 2006;31(2):149-58.
20. Fournier PA, Brau L, Ferreira LD, Fairchild T, Raja G, James A, et al. Glycogen resynthesis in the absence of food ingestion during recovery from moderate or high intensity physical activity: novel insights from rat and human studies. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol* 2002;133(3):755-63.
21. Hargreaves M. Muscle glycogen and metabolic regulation. *Proc Nutr Soc* 2004;63(2):217-20.
22. Kharitonova IV, Gornushkina E, Nikolaev VI, Ovchinnikov BV. [The reaction characteristics of the endocrine and cardiovascular systems in persons with different types of temperament to emotional stress]. *Fiziol Cheloveka* 2000;26(3):121-5.
23. Piziak VK. Medical management of obesity. *Compr Ther* 1991;17(3):54-9.
24. Lavoie J-M, Fillion Y, Couturier K, Corriveau P. Exercise Effects on Muscle Insulin Signaling and Action: Selected Contribution: Evidence that the decrease in liver glycogen is associated with the exercise-induced increase in IGF1. *J Appl Physiol* 2002;93(2):798-804.
25. Krisman CR. A method for the colorimetric estimation of glycogen with iodine. *Anal Biochem* 1962;4:17-23.
26. Kjaer M. Hepatic glucose production during exercise. *Adv Exp Med Biol* 1998;441:117-27.
27. Drust B, Reilly T, Cable NT. Physiological responses to laboratory-based soccer-specific intermittent and continuous exercise. *J Sports Sci* 2000;18(11):885-92.
28. De Feo P, Di Loreto C, Lucidi P, Murdolo G, Parlanti N, De Cicco A, et al. Metabolic response to exercise. *J Endocrinol Invest* 2003;26(9):851-4.
29. Welsh RS, Davis JM, Burke JR, Williams HG. Carbohydrates and physical/mental performance during intermittent exercise to fatigue. *Med Sci Sports Exerc* 2002;34(4):723-31.

30. Stalmans W, Cadefau J, Wera S, Bollen M. New insight into the regulation of liver glycogen metabolism by glucose. *Biochem Soc Trans* 1997;25(1):19-25.
31. Tsintzas K, Simpson EJ, Seevaratnam N, Jones S. Effect of exercise mode on blood glucose disposal during physiological hyperinsulinaemia in humans. *Eur J Appl Physiol* 2003;89(2):217-20.
32. Tsintzas K, Williams C. Human muscle glycogen metabolism during exercise. Effect of carbohydrate supplementation. *Sports Med* 1998;25(1):7-23.
33. Gleeson TT. Post-exercise lactate metabolism: a comparative review of sites, pathways, and regulation. *Annu Rev Physiol* 1996;58:565-81.
34. McAllister RM. Adaptations in control of blood flow with training: splanchnic and renal blood flows. *Med Sci Sports Exerc* 1998;30(3):375-81.
35. Coggan AR, Coyle EF. Effect of carbohydrate feedings during high-intensity exercise. *J Appl Physiol* 1988;65(4):1703-9.
36. Jeukendrup AE. Carbohydrate intake during exercise and performance. *Nutrition* 2004;20(7-8):669-77.
37. Drouin R, Robert G, Milot M, Massicotte D, Peronnet F, Lavoie C. Swim training increases glucose output from liver perfused in situ with glucagon in fed and fasted rats. *Metabolism* 2004;53(8):1027-31.

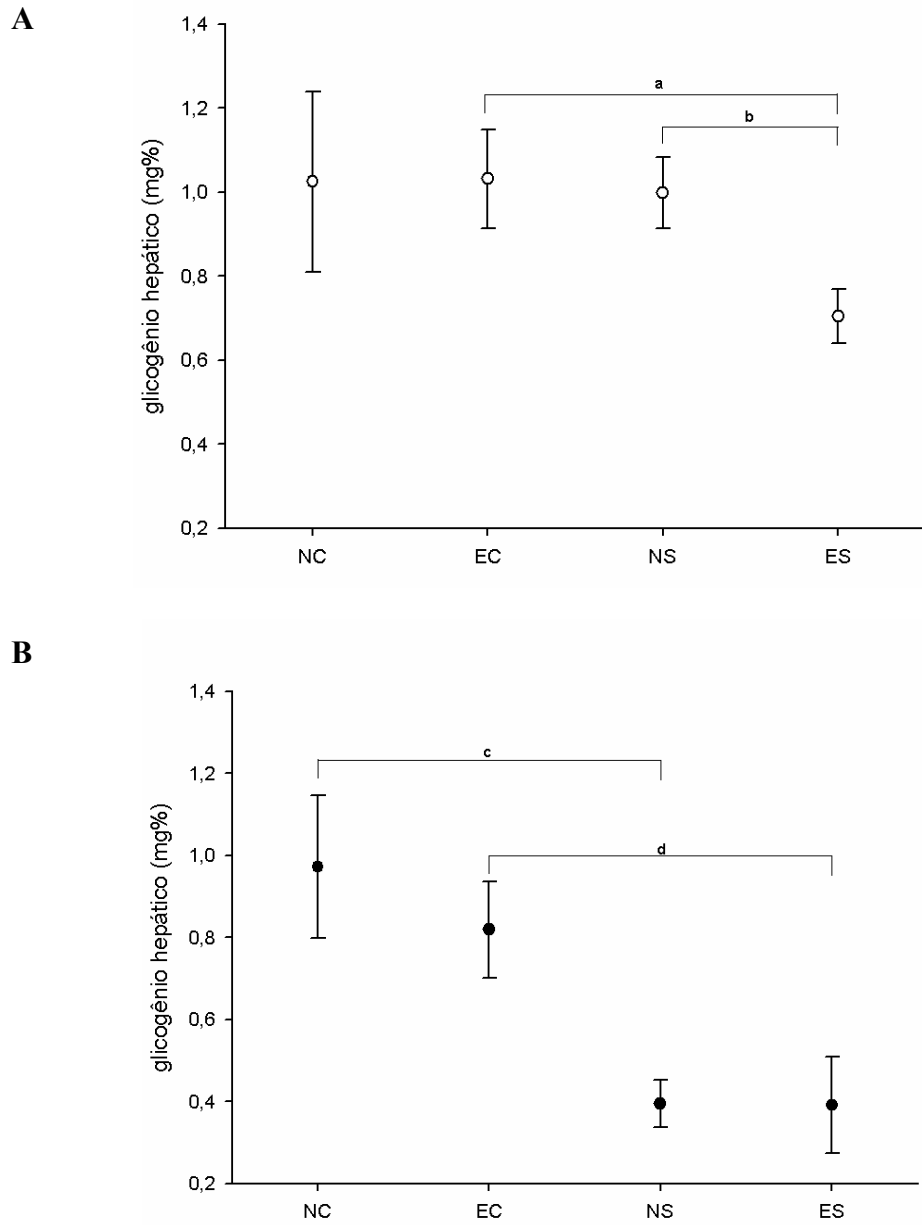
Figure 1



<sup>a</sup> difference between trained and untrained groups exercised with carbohydrate  $p < 0,001$ .

<sup>b</sup> difference between trained and untrained groups non-exercised without carbohydrate  $p = 0,007$ .

Figure 2



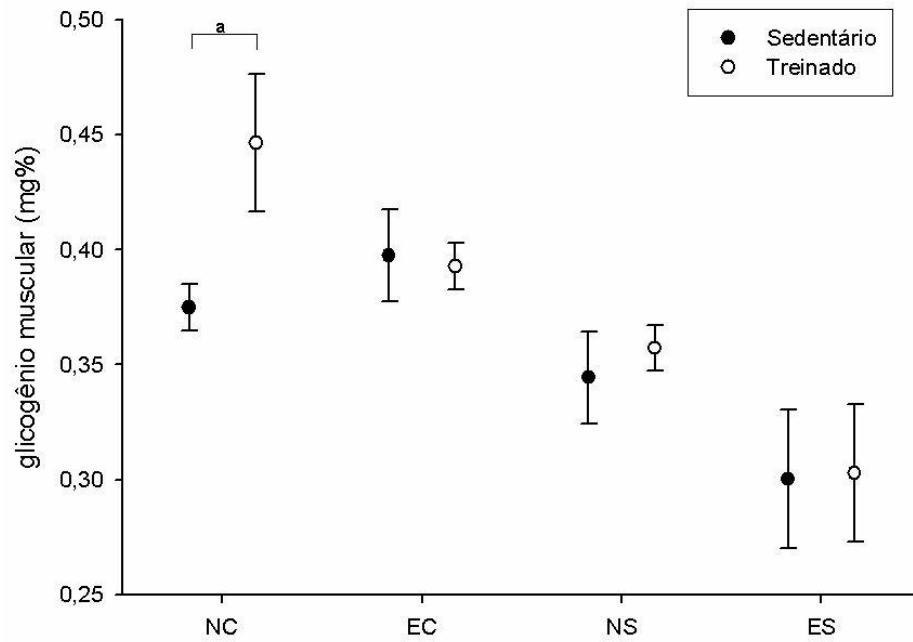
<sup>a</sup> difference between trained groups exercised with and without carbohydrate  $p = 0,007$ .

<sup>b</sup> difference between trained groups exercised and non exercised without carbohydrate  $p = 0,022$ .

<sup>c</sup> difference between untrained groups non-exercised with and without carbohydrate  $p < 0,001$ .

<sup>d</sup> difference between untrained groups exercised with and without carbohydrate  $p = 0,001$ .

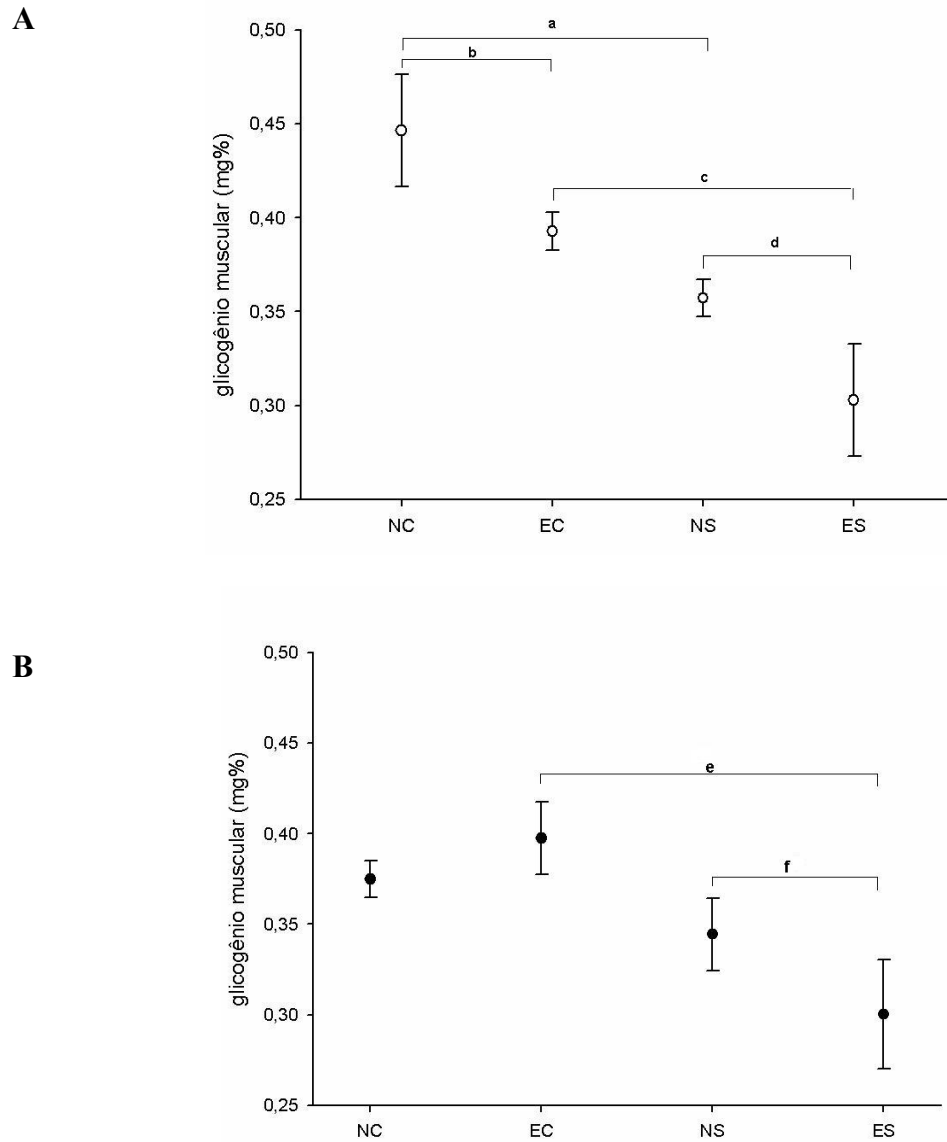
Figure 3



<sup>a</sup> difference between trained and untrained groups non-exercised with carbohydrate p < 0,001.



Figure 4



<sup>a</sup> difference between trained groups non-exercised with and without carbohydrate  $p < 0,001$ .

<sup>b</sup> difference between trained groups exercised and non-exercised with carbohydrate  $p = 0,003$ .

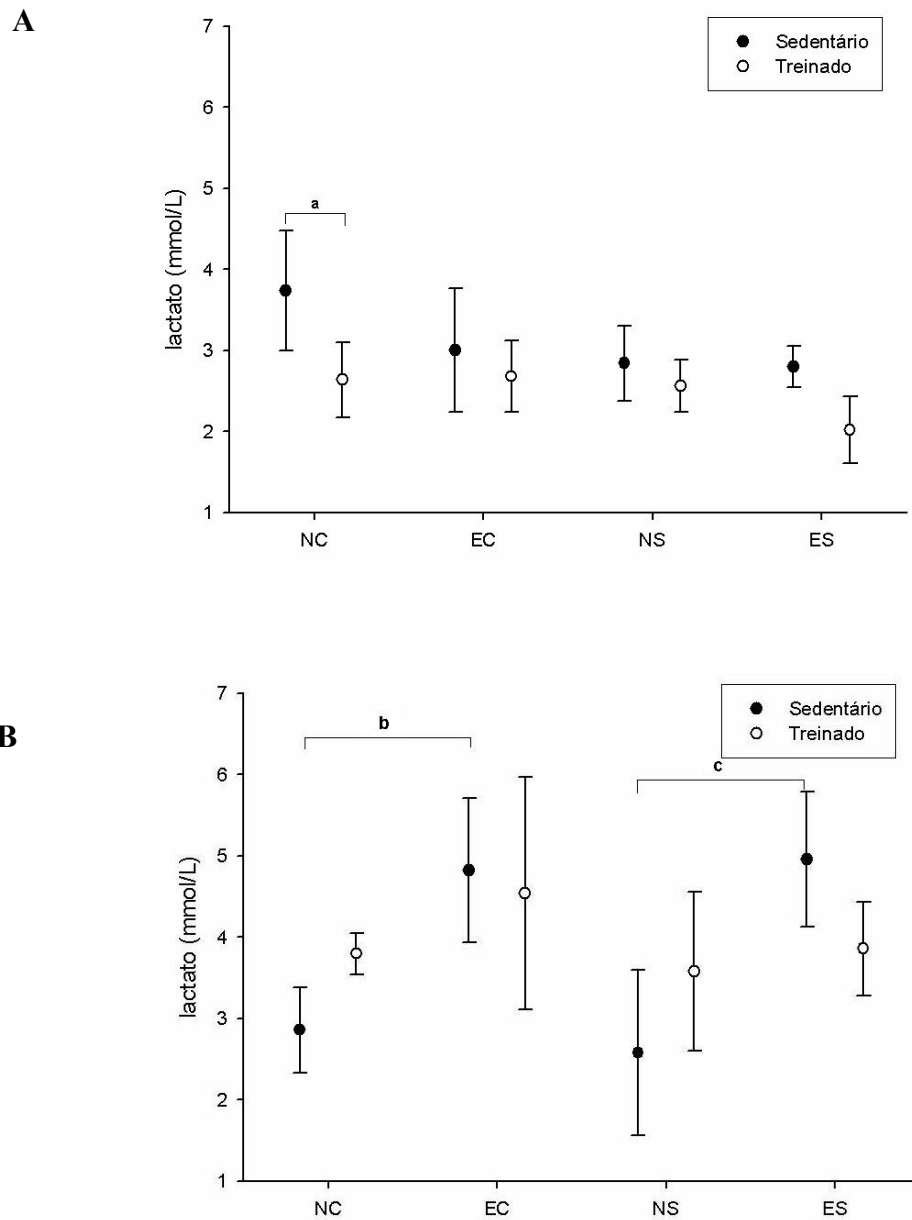
<sup>c</sup> difference between trained groups exercised with and without carbohydrate  $p < 0,001$ .

<sup>d</sup> difference between trained groups exercised and non-exercised without carbohydrate  $p = 0,002$ .

<sup>e</sup> difference between untrained groups exercised with and without carbohydrate  $p < 0,001$ .

<sup>f</sup> difference between untrained groups exercised and non-exercised without carbohydrate  $p = 0,021$ .

Figure 5



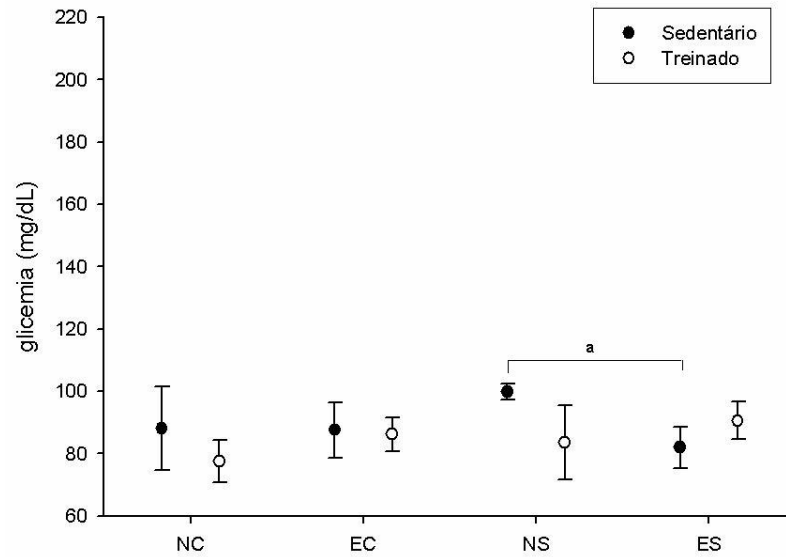
<sup>a</sup> difference between trained and untrained groups non-exercised with carbohydrate  $p = 0,034$ .

<sup>b</sup> difference between untrained groups exercised and non-exercised with carbohydrate  $p < 0,026$ .

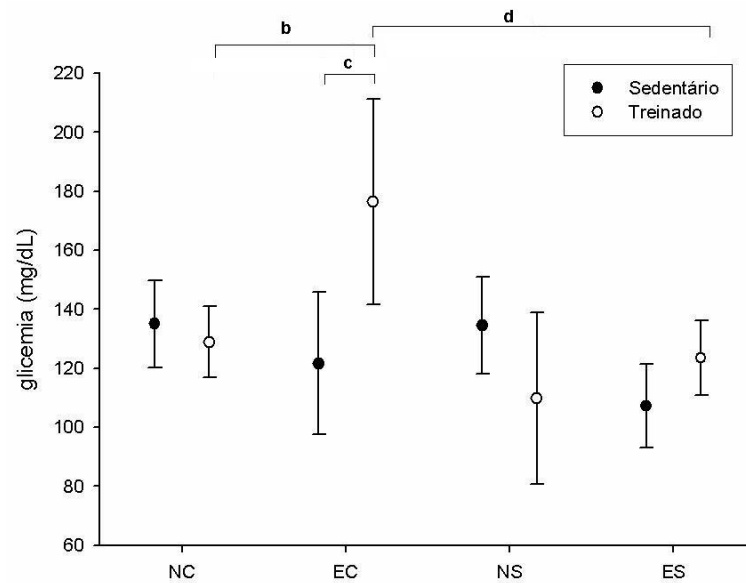
<sup>c</sup> difference between untrained groups exercised and non-exercised without carbohydrate  $p = 0,004$ .

Figure 6

A



B



<sup>a</sup> difference between untrained groups exercised and non-exercised without carbohydrate  $p < 0,027$ .

<sup>b</sup> difference between trained groups exercised and non-exercised with carbohydrate  $p = 0,028$ .

<sup>c</sup> difference between trained and untrained groups exercised with carbohydrate  $p = 0,007$ .

<sup>d</sup> difference between trained groups exercised with and without carbohydrate  $p = 0,018$ .

## Figure Legend

### Figure 1

Hepatic glycogen after exercise. (NC = non-exercised with carbohydrate; EC = exercised with carbohydrate; NS = non-exercised without carbohydrate; ES = exercised without carbohydrate)

### Figure 2

(A) Hepatic Glycogen in trained rats; (B) Hepatic Glycogen in untrained rats.

### Figure 3

Muscle Glycogen post-exercise.

### Figure 4

(A) Muscle Glycogen in trained rats; (B) Muscle Glycogen in untrained rats.

### Figure 5

Lactate before (A) and after (B) exercise. Lactate values were corrected using a covariance analysis.

### Figure 6

Glicemia before (A) and after (B) exercise.