

METABOLISMO DE CARMOSINA, SUPLEMENTAÇÃO DE β -ALANINA E DESEMPENHO FÍSICO: ATUALIZAÇÃO - PARTE I

Vitor de Salles Painelli¹
 Paola Freitas¹
 Bruno Gualano¹
 Guilherme Giannini Artioli¹

RESUMO

Os papéis fisiológicos da carnosina tem despertado interesse recente, apesar de já ser uma substância estudada há anos. É formada através de aminoácidos (β -alanil e L-histidina) e juntamente com seus análogos metilados (anserina e ofidina- balenina) fazem parte da classe dos dipeptídeos contendo histidina (HCDs, do inglês *Histidine-Containing Dipeptides*), os quais são abundantemente encontrados em uma ampla gama de animais terrestres e aquáticos. Maiores concentrações estão no músculo esquelético e bulbo olfatório, estando em menor quantidade em regiões do sistema nervoso central, fluido cerebroespinal, rins e baço. Dentre os papéis fisiológicos atribuídos a ela estão: função tamponante especialmente nas fibras tipo II; ação antioxidante e melhora da liberação do cálcio do retículo sarcoplasmático, e na sensibilidade do aparato contrátil ao cálcio. A suplementação de β -alanina é a forma mais eficiente de aumentar a carnosina muscular, e vem recebendo demasiado destaque na área de nutrição esportiva em anos recentes. Esta estratégia nutricional apresenta um efeito "dose-resposta" com a ingestão aguda, além da parestesia como efeito colateral. Até hoje permanece incerto o tempo exato de washout da carnosina no músculo esquelético após a interrupção da suplementação de β -alanina. Estudos futuros devem ser realizados para avaliar outros possíveis mecanismos de ação da carnosina, e confirmar os já existentes.

Palavras-chave: Carnosina. Beta-Alanina. Suplementos Dietéticos. Desempenho Atlético.

1-Escola de Educação Física e Esporte da Universidade de São Paulo, Brasil.

ABSTRACT

Carnosine metabolism, β -alanine supplementation and performance: an update - Part I

The physiological role of carnosine has attracted recent interest, even though it is a substance studied for years. It is formed by amino acids (β -alanyl and L-histidine) and together with their methylated analogues (anserine and balenine) are part of the class of histidine-containing dipeptides (HCDs, English *Histidine-containing dipeptides*), which are abundantly found in a wide range of terrestrial and aquatic animals. Higher concentrations are in the olfactory bulb and skeletal muscle being a lesser extent in regions of the central nervous system, cerebrospinal fluid, kidney and spleen. The physiological roles attributed to it are: buffering function especially in type II fibers; antioxidant and improves the release of calcium from the sarcoplasmic reticulum, and the sensitivity of the contractile apparatus to calcium. Supplementation of β -alanine is the most efficient way to increase muscle carnosine, and has been receiving substantial highlight in the sports nutrition area in recent years. This nutritional strategy presents a "dose -response" effect from acute ingestion, as well as paresthesia as a side effect. Until these days the exactly washout period of carnosine in the skeletal muscle remains uncertain after β -alanine supplementation interruption. Future studies should be conducted to evaluate other possible mechanisms of action of carnosine and confirm existing ones.

Key words: Carnosine. Beta-Alanine. Dietary Supplements. Athletic Performance.

E-mail:
 vitor.painelli@gmail.com
 paolamssfreitas@gmail.com
 gualano@usp.br
 artioli.gg@gmail.com

INTRODUÇÃO

A suplementação de β -alanina tem despertado cada vez mais o interesse de atletas, entusiastas do esporte e da comunidade científica nas ciências do esporte e exercício.

Um levantamento recentemente realizado entre atletas australianos profissionais mostrou que mais de 60% deles faz uso de suplementos contendo β -alanina (Kelly e colaboradores, 2013).

Possivelmente, tal interesse é reflexo do crescente acúmulo de evidências científicas acerca dos seus efeitos ergogênicos, sobretudo em exercícios de alta intensidade (Sale e colaboradores, 2013).

Desde a publicação do trabalho seminal liderado pelo Professor Roger Harris, em 2006, demonstrando que a suplementação de β -alanina é capaz de aumentar a carnosina muscular e o desempenho (Harris e colaboradores, 2006), inúmeros outros estudos confirmaram de forma bastante consistente que sua suplementação, de fato, aumenta a carnosina muscular, o que é acompanhado por melhoras na capacidade de desempenhar exercícios de alta intensidade (Hobson e colaboradores, 2012).

Embora o interesse pelos papéis fisiológicos da carnosina seja recente na área de educação física/esporte, a carnosina tem sido objeto de estudo por mais de 100 anos. A carnosina foi descoberta em 1900 pelo bioquímico russo Vladimir Gulewitch (Boldyrev, 2012) e, desde então, diversas funções têm sido atribuídas a essa molécula.

Presente de forma abundante no músculo esquelético (Harris e colaboradores, 2006), músculo cardíaco (O'Dowd, Robins e Miller, 1988) e no bulbo olfatório (região do sistema nervoso central responsável pela percepção dos odores) (Perry, Hansen e Gandham, 1981), a carnosina também pode ser encontrada em menores concentrações em outras regiões do sistema nervoso (Aldini e colaboradores, 2004), além dos rins, baço e fluido cerebrospinal (Boldyrev, Aldini e Derave, 2013).

O alto grau de conservação ao longo do processo evolutivo, a elevada concentração em alguns tecidos, a presença em diversos órgãos e o alto grau de organização de componentes de seu metabolismo entre os vertebrados⁹ sugerem que a carnosina (e

moléculas análogas) desempenha funções primordiais na homeostase de diferentes tipos celulares.

Dentre os papéis fisiológicos da carnosina, destacam-se: tamponamento de íons hidrogênio (H^+) (Abe, 2000), regulação da sensibilidade do aparato contrátil ao cálcio (Dutka e colaboradores, 2012), potencialização da liberação do cálcio dos retículos sarcoplasmáticos durante a contração muscular (Batrukova e Rubtsov, 1997; Dutka e colaboradores, 2012), quelação de íons metálicos (Velez, Nair e Reddy, 2008), ação antioxidante e inibição da formação de produtos avançados da glicoxidação e lipoxidação (Boldyrev, Aldini e Derave, 2013).

Juntas, essas funções conferem à carnosina um enorme potencial de aplicação no contexto esportivo, bem como no contexto clínico (Sale e colaboradores, 2013; Hipkiss e colaboradores, 2013).

Nesta revisão narrativa, discutiremos o conhecimento atual a respeito do metabolismo de carnosina no músculo esquelético, bem como os efeitos fisiológicos da suplementação de β -alanina, com especial ênfase para suas aplicações no contexto da educação física/esporte, apresentando uma atualização que inclui os mais recentes estudos sobre suplementação de β -alanina ou carnosina.

Em função do volume de informações, esta revisão está dividida em duas partes. Nesta primeira parte, discutiremos os papéis fisiológicos da carnosina e seus análogos químicos, bem como seu metabolismo e os efeitos da suplementação de β -alanina.

Na parte II, apresentaremos de forma pormenorizada os efeitos da suplementação de β -alanina sobre o desempenho físico e esportivo, considerando-se as particularidades de cada tipo de exercício, modalidade esportiva e se as características dos indivíduos interferem nas respostas à suplementação.

Para tanto, realizamos em maio de 2014 uma busca nas bases de dados "pubmed" e "google scholar" com os seguintes termos: "carnosine", "carnosine and exercise", " β -alanine supplementation", e " β -alanine supplementation and exercise".

Os resultados foram selecionados de acordo com a relevância para o tema e qualidade do desenho experimental. Artigos não encontrados nessa busca, mas citados

nos artigos selecionados também foram incluídos na revisão, quando pertinente.

Estrutura química da β -alanina, carnosina e compostos análogos

A β -alanina é um aminoácido não-essencial e não-proteínogênico, o que significa que não participa da estrutura primária de proteínas. Isso ocorre com os beta-aminoácidos em geral, uma vez que não possuem códons específicos para sua incorporação na cadeia peptídica durante a síntese proteica. A estrutura química da β -alanina assemelha-se à do ácido-gama-aminobutírico (GABA) (figura 1).

É importante ressaltar que a β -alanina não deve ser confundida com a alfa-alanina, pois possui seu grupo amino no carbono beta da cadeia carbônica do amino ácido (a figura 1 ilustra a diferença estrutural entre alfa e β -alanina).

A carnosina (β -alanil-L-histidina) e seus análogos metilados (i.e., anserina e ofidina, esta última também conhecida como balenina) fazem parte da classe dos dipeptídeos contendo histidina (HCDs, do

inglês *Histidine-Containing Dipeptides*), os quais são abundantemente encontrados em uma ampla gama de animais terrestres e aquáticos.

A carnosina é formada pelos aminoácidos L-histidina e β -alanina, ao passo que seus análogos metilados apresentam estrutura bastante semelhante, à exceção da presença de um grupo metil.

Tanto a anserina como a ofidina podem ser sintetizadas a partir da carnosina, por meio de sua metilação. Vias alternativas de síntese da anserina e ofidina incluem a fusão de grupos metil-histidina à β -alanina, ou a transferência do grupo β -alanil de uma carnosina à uma metil-histidina (McManus, 1957).

Acredita-se que tanto a carnosina como seus análogos metilados desempenham papéis fisiológicos semelhantes. O único HCD presente em humanos é a carnosina, ao passo que a ofidina é primariamente presente em cetáceos (Clifford, 1921).

Já a anserina é presente em diversas ordens de mamíferos e até em outras classes de animais, como as aves (Clifford, 1921).

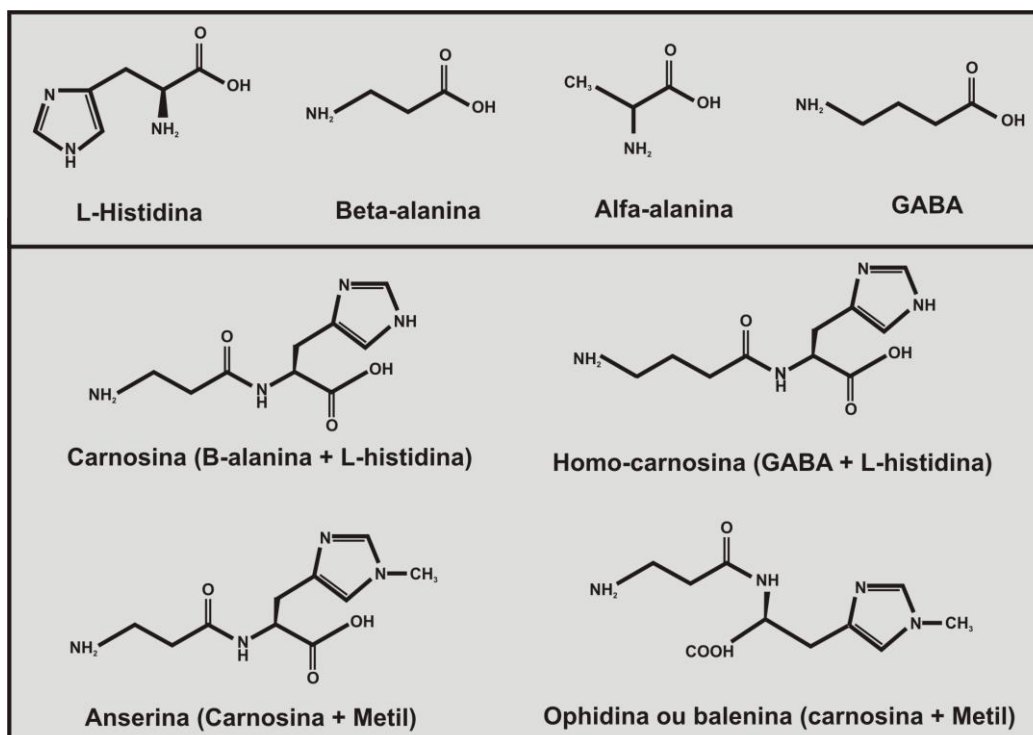


Figura 1 - Representação esquemática da estrutura química dos aminoácidos (painel superior) que constituem os dipeptídeos histidínicos de maior relevância fisiológica (painel inferior). A α -alanina está representada para destacar a diferença estrutural em relação à β -alanina.

Além da anserina e ofidina, outro análogo à carnosina de grande relevância fisiológica é a homocarnosina. Também presente em humanos, embora com maior predominância no sistema nervoso central, acredita-se que a principal função da homocarnosina seja a de neurotransmissor (Snyder, 1980).

A estrutura da homocarnosina é semelhante à da carnosina, embora a β -alanina seja substituída por um GABA, resultando na fusão de um GABA à uma L-histidina. A figura 1 apresenta as estruturas químicas dos HCDs de maior relevância fisiológica, bem como de seus aminoácidos constituintes.

Síntese e transporte de β -alanina e carnosina

O principal local onde ocorre a síntese endógena da β -alanina é o fígado (Matthews e Traut, 1987), onde sua principal via de produção coincide com a via de degradação da uracila (Fritzson, 1957). Embora o produto final dessa via seja o CO_2 , evidências mostram que a taxa de conversão " β -alanina \rightarrow CO_2 " é bastante baixa, de tal forma que apenas uma pequena fração da β -alanina produzida é degradada a CO_2 no fígado. Isso sugere que a síntese endógena de β -alanina, e não a degradação de uracila, é a principal função dessa via (Fritzson e Pihl, 1957; Artioli e colaboradores, 2010).

A figura 2 detalha as reações dessa via e a apresenta as taxas de conversão de cada reação individualmente.

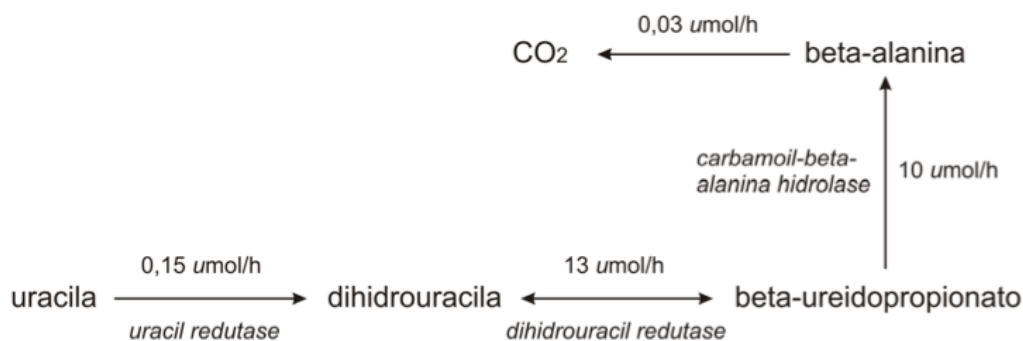


Figura 2 - Via de degradação da uracila e síntese de β -alanina, que ocorre nos hepatócitos. Extraído de Artioli e colaboradores (2010), e construído com base nos dados de Fritzson (1957), Fritzson e Pihl (1957) e Fritzson e Efskind (1965).

Evidências indicam que existem duas vias alternativas de produção endógena de β -alanina. Uma delas ocorre no intestino, pela ação da enzima aspartato descarboxilase (EC 4.1.1.11), a qual catalisa a conversão aspartato \rightarrow β -alanina, com formação de CO_2 (Williamson e Brown, 1979).

Uma vez que tal enzima foi isolada da bactéria *E.Coli*, abundante na biota intestinal, e que o gene que codifica para a aspartato descarboxilase (gene *panD*, ID: 14968523) não faz parte do genoma humano, pode-se especular que essa via pode ser uma relevante fonte endógena de β -alanina no intestino humano.

A segunda via alternativa de produção de β -alanina parece ocorrer nos rins, no fígado

e no cérebro. Estudos em roedores e suínos mostram que esses tecidos expressam a enzima β -alanina-piruvato transaminase (EC 2.6.1.18) (Den, Robinson e Coon, 1959; Hayaishi e colaboradores, 1961).

Sabe-se que o gene que codifica para a β -alanina-piruvato transaminase (gene *AGXT2*, ID: 64902) faz parte do genoma humano e que, em humanos, a presença dessa enzima foi confirmada no fígado (Baker e colaboradores, 2004).

Contudo, não existem informações acerca de sua expressão e atividade em outros tecidos. A figura 3 ilustra as prováveis vias de síntese de β -alanina.

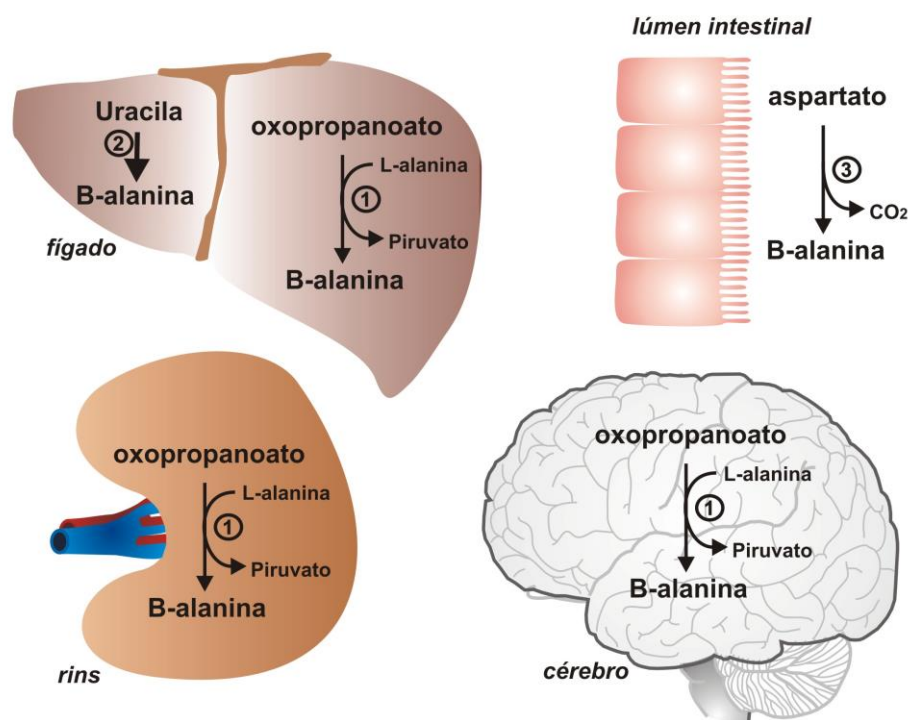


Figura 3 - Ilustração esquemática das prováveis vias e locais de síntese endógena de β -alanina em humanos. 1: enzima β -alanina-piruvato-transaminase (EC 2.6.1.18, gene AGXT2, gene ID 64902), confirmado no fígado de humanos e nos rins e cérebro de outros mamíferos; 2: via multi-enzimática detalhada na figura 2 (enzima final é β -alanina sintase EC 3.5.1.6, gene UPB1, gene ID 51733), confirmado em mamíferos (Matthews e colaboradores, 1992), incluindo humanos (Sakamoto e colaboradores, 2001); 3: Aspartato descaboxilase (EC 4.1.1.11, gene panD, gene ID 14968523), não encontrada em humanos, mas em *E.Coli*, bactéria abundante na microbiota intestinal de humanos.

A despeito de ser produzida endogenamente, a taxa de síntese endógena de β -alanina é extremamente baixa e, como consequência, as concentrações plasmáticas desse aminoácido encontram-se consistentemente próximas de zero, ou abaixo dos limites de detecção das técnicas de quantificação (Harris e colaboradores, 2006).

Assim, a ingestão desse aminoácido pela dieta, seja pelo consumo de alimentos ricos em HCDs que contenham β -alanina, ou pela suplementação de β -alanina, é fundamental para aumentar sua disponibilidade ao organismo.

A β -alanina pode ser ingerida na dieta, por meio de alimentos contendo carnosina, anserina ou ofidina (suas principais fontes são as carnes, tanto vermelhas, como de peixes, aves e suínos). Vale mencionar que o cozimento de carnes não reduz o conteúdo de carnosina, o qual varia entre 125 e 400

mg/100 g de carne (Park, Volpe e Decker, 2005).

Pode-se também obter β -alanina por meio da suplementação. Quando alimentos contendo HCDs são ingeridos, os dipeptídeos sofrem a ação de uma enzima presente na mucosa jejunal, denominada carnosinase ou CNDP1.

Isso sugere que a carnosina é quase imediatamente clivada em β -alanina e L-histidina, antes mesmo de atingir a circulação sanguínea (Asatoor e colaboradores, 1970).

No entanto, essa hidrólise de carnosina no jejuno é provavelmente parcial, uma vez que alguns estudos foram capazes de demonstrar elevação da carnosinemia após a ingestão de carnosina (Hama e colaboradores, 1976; Dunnett e colaboradores, 2002).

Ainda assim, a carnosina que é absorvida intacta até a corrente sanguínea

também está sujeita a sofrer hidrólise, uma vez que o sangue apresenta uma isoforma da carnosinase cuja atividade parece ser relativamente elevada (Sale e colaboradores, 2013).

A despeito da presença de carnosinases no trato digestivo e no sangue, é provável que parte da carnosina ingerida oralmente permaneça intacta na circulação por algumas horas, conforme sugerem os dados de Park, Volpe e Decker (2005) e Asatoor e colaboradores, (1970).

Dessa forma, acredita-se que, quando a carnosina é ingerida, tanto o dipeptídeo intacto quanto seus aminoácidos β -alanina e L-histidina tornam-se disponíveis à captação pelos tecidos periféricos.

Após a ingestão de alimentos contendo carnosina, anserina ou ofidina, ou após a ingestão de suplementos contendo β -alanina, observa-se um aumento da quantidade de β -alanina no trato gastrointestinal.

A β -alanina que chega ao intestino é absorvida tanto no jejuno como no íleo, em taxas semelhantes, e transportada para a circulação através dos enterócitos (Navab e colaboradores, 1984). Três proteínas diferentes podem realizar esse transporte, a saber: TauT, ATB^{0,+} e PAT1. O transportador intestinal de β -alanina ATB^{0,+} (SLC6A14) parece ser o mais importante e realiza co-transporte de β -alanina, Cl⁻ e Na⁺ através dos enterócitos, na razão 1:1:2-3, respectivamente (Anderson, Ganapathy e Thwaites, 2008).

Trata-se, portanto, de um transporte dependente de Cl⁻ e Na⁺. Esse sistema difere do sistema de transporte da alfa-alanina. Vale dizer que a taurina é substrato comum desse transportador (Miyamoto e colaboradores, 1990), sugerindo que pode haver competição entre taurina e β -alanina, se ingeridos concomitantemente. A carnosina pode também ser absorvida e transportada para a circulação na sua forma intacta pela ação de transportadores nos enterócitos, em especial uma proteína denominada PepT1 (SLC15a1) (Ferraris, Diamond e Kwan, 1988; Zwarycz e Wong, 2013).

Esse sistema de transporte tem sido descrito como dependente de próton (H⁺), de baixa afinidade e alta capacidade, uma vez que medeia o transporte de todos os possíveis di- e tripeptídeos, embora não participe do

transporte de nenhum aminoácido simples (Sala-Rabanal e colaboradores, 2006).

Uma vez que a carnosina atinge a circulação, ela é clivada em β -alanina e L-histidina pela carnosinase sérica, ou permanece intacta até que seja captada pelos tecidos periféricos, incluindo o músculo esquelético. Embora estudos *in vitro* sugiram que a carnosina não seja transportada na sua forma intacta para dentro do músculo esquelético (Bauer e Schulz, 1994), estudos com análise de expressão gênica em músculo esquelético de humanos demonstraram alta expressão do gene PHT2 (SLC15a3) (Everaert e colaboradores, 2013).

Esse gene codifica uma proteína transportadora que, em astrócitos, sabe-se ser responsável pelo transporte de alguns aminoácidos, oligopeptídeos e carnosina (Xiang e colaboradores, 2006).

Ainda que a expressão de PHT2 no músculo não confirme categoricamente que a captação de carnosina ocorra para esse tecido, é plausível assumir que, em humanos, a carnosina possa ser transportada para as células musculares.

A exemplo do que ocorre com a carnosina absorvida, a β -alanina que chega à circulação também é captada pelos tecidos periféricos. No músculo esquelético, esse transporte é realizado pela proteína TauT (SLC6A6) (Everaert e colaboradores, 2013) em um sistema dependente de Na⁺ e Cl⁻, o qual também tem como substrato a taurina (Broer, 2008). Outro possível sistema de β -alanina para o músculo esquelético envolve a proteína PAT1.

A ocorrência da expressão do transportador PAT1 no músculo esquelético de humanos (Everaert e colaboradores, 2013), o qual também é capaz de transportar β -alanina é indicativo de que esse sistema de transporte também pode atuar na captação de β -alanina da circulação para o músculo esquelético.

No caso da L-histidina, a proteína transportadora responsável pela captação para o músculo esquelético é a PHT2 (Botka e colaboradores, 2000).

Uma vez dentro das células musculares, a enzima carnosina-sintase realiza a condensação de β -alanina e histidina, sintetizando carnosina (Drozak e colaboradores, 2010; Stellingwerff e colaboradores, 2012).

O músculo esquelético é incapaz de produzir histidina, tampouco β -alanina. Portanto, a síntese de carnosina pelo músculo esquelético depende unicamente da captação desses aminoácidos (Artoli e colaboradores, 2010).

Levando-se em consideração que a concentração de β -alanina no interior das células musculares é cerca de 40 vezes menor do que a de L-histidina (Harris e colaboradores, 2006), e que a β -alanina possui uma afinidade com a carnosina-sintetase cerca de 1000 vezes menor em relação ao seu outro substrato, L-histidina (K_m para β -alanina $\approx 1-2$ mM; K_m para L-histidina ≈ 17 μ M) (Horinishi, Grillo e Margolis, 1978; Ng e Marshall, 1978), pode-se afirmar que a disponibilidade de β -alanina é o ponto limitante

para a síntese de carnosina (Harris e colaboradores, 2006).

O fato de vegetarianos (que não consomem alimentos fonte de β -alanina) apresentarem menores concentrações intramusculares de carnosina em relação a onívoros fortalece a ideia de que a disponibilidade exógena de β -alanina é fundamental para a síntese de carnosina no músculo esquelético.

Por fim, o fato de a suplementação de β -alanina aumentar o conteúdo de carnosina no músculo confirma que a síntese muscular de carnosina depende primariamente do aporte de β -alanina ao músculo esquelético. A figura 4 apresenta uma visão geral do transporte de β -alanina, síntese e degradação de carnosina.

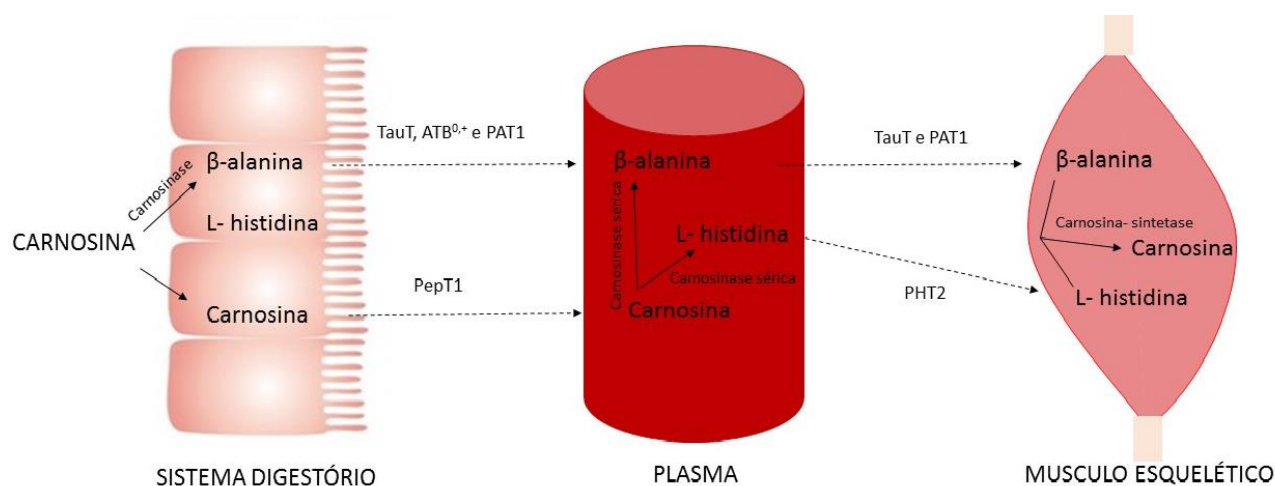


Figura 4 - Via geral do transporte de β -alanina, síntese e degradação de carnosina.

Papéis fisiológicos da carnosina:

Regulação do estado ácido-base intracelular

Experimentos iniciais investigando os papéis fisiológicos da carnosina demonstraram que, quando em elevadas concentrações, a carnosina tornava o músculo esquelético mais resistente à fadiga (Severin, Kirzon e Kaftanova, 1953).

Alguns anos depois, estudos demonstraram que a carnosina era constituída por 3 grupos ionizáveis: um grupo carboxílico, um grupo amino e uma cadeia lateral (esta última conhecida como anel imidazol) (Tanokura, Tasumi e Miyazawa, 1976; Ashikawa e Itoh, 1979).

Tais estudos mostraram que estes grupos possuem valores de pK_a de 2,77, 9,66 e 6,83, respectivamente. Para que um sistema tampão atue nas células musculares de forma ótima, seu pK_a ideal deve ser próximo ao ponto médio da faixa de variação de pH repouso-exercício. Em outras palavras, o pK_a de um tampão intramuscular ideal deve ser $\sim 6,8$, já que em repouso o pH muscular é $\sim 7,1$ e, na fadiga, $\sim 6,5$ (Costill e colaboradores, 1984).

Dentre todos os aminoácidos de cadeia lateral ionizável, apenas o anel imidazol da histidina possui valor de pK_a (6.1), próximo da variação fisiológica do pH muscular. No entanto, nota-se que 6.1 ainda é um valor sub-

ótimo de pKa de um sistema tampão fisiológico intramuscular.

Sabe-se que a condensação de histidina com o aminoácido β -alanina leva à formação de carnosina. Quando isso ocorre, o valor de pKa de seu anel imidazol passa a ser 6.83, tornando a carnosina um tampão ideal, ou quimicamente obrigatório, dentro da variação fisiológica do pH intramuscular.

Dessa forma, o tamponamento do pH vem sendo a mais bem demonstrada função da carnosina, pelo menos no que diz respeito ao tecido muscular (Artoli e colaboradores, 2010).

Nos outros tecidos onde a carnosina se encontra, a confirmação de sua função tamponante ainda carece de mais investigações.

Estudos transversais têm apoiado, de certa forma, o potencial papel da carnosina como tampão intracelular. Especificamente, tem sido observado que as espécies animais que possuem maiores concentrações intramusculares deste dipeptídeo são 1) aquelas que dependem do metabolismo anaeróbico para a sobrevivência, seja para a caça ou para a fuga; e 2) aquelas cujos músculos são expostos a frequentes situações de hipóxia (condição que sabidamente resulta em acidose intramuscular), como as baleias (Abe, 2000).

Uma outra importante evidência apoiando o papel da carnosina como tampão intracelular é fato da concentração de carnosina ser cerca de 3 vezes maior nas fibras musculares do tipo II, as chamadas "fibras glicolíticas", em relação às fibras do tipo I.

No músculo de equinos, por exemplo, Dunnett & Harris (Dunnett e Harris, 1997) observaram valores médios de carnosina nas fibras do tipo I, IIa e IIb de 27 ± 6 , 90 ± 10 e 97 ± 13 mmol/kg de músculo seco, respectivamente.

Um padrão similar tem sido observado em humanos onívoros, os quais consomem carnosina por meio da dieta. Estudos com biópsia do músculo vasto lateral, em humanos, mostraram que o conteúdo de carnosina em fibras do tipo II é aproximadamente o dobro do conteúdo deste dipeptídeo em fibras do tipo I (23.2 vs. 10.5 mmol/kg de músculo seco) (Harris e colaboradores, 2006).

É interessante destacar que a função tamponante da carnosina possui especial

importância para o campo do esporte e fisiologia do exercício. Isso se deve ao fato da acidose muscular, isto é, o acúmulo de íons H^+ , ser apontado como uma das principais causas da fadiga muscular durante exercícios de alta intensidade (Fitts, 1994), já que o acúmulo de íons H^+ teria a capacidade de interferir nos processos contráteis e de produção de energia (Fabiato e Fabiato, 1978; Sutton, Jones e Toews, 1981).

Assim, diversos estudos vêm sendo realizados ao longo dos últimos anos com o objetivo de investigar os efeitos ergogênicos do aumento no conteúdo muscular de carnosina (Sale e colaboradores, 2013; Derave, 2013).

Apesar dos recentes avanços, poucos são os estudos que avaliaram a influência de um conteúdo muscular elevado de carnosina sobre o comportamento do pH muscular durante ou após um exercício físico intenso (Gross e colaboradores, 2014).

Ação antioxidante

Além da função tamponante, existem evidências que sugerem que a carnosina também pode atuar como um potente agente antioxidante.

Num dos primeiros estudos, Boldyrev e colaboradores (1988) demonstraram que, na presença de carnosina, observa-se uma diminuição das concentrações de ácido tiobarbitúrico, um produto estreitamente relacionado com a peroxidação lipídica.

Tal efeito pode se dar por meio da interação e sequestro de radicais peróxil (Kohen e colaboradores, 1988) e de ânions superóxido (Pavlov e colaboradores, 1993).

Adicionalmente, já foi demonstrado que a carnosina e seus análogos são eficientes agentes queladores de metais de transição (Kang e colaboradores, 2002).

Tais metais são conhecidos por promover a produção de radicais livres, tais como os radicais hidroxila através da reação de Fenton.

Com isso, por meio de sua ação de quelante, concentrações aumentadas de carnosina poderiam implicar numa menor produção destes radicais, e portanto, em menores efeitos deletérios sobre o metabolismo muscular.

A função antioxidante da carnosina certamente contribui para que a carnosina seja

vista não apenas como um promissor agente ergogênico, mas também como uma molécula de promissores efeitos terapêuticos. Isso porque o estresse oxidativo vem sendo apontado como gatilho complicador de diversas doenças neuromusculares (Sayre, Smith e Perry, 2001; Ischiropoulos e Beckman, 2003).

Contudo, grande parte das evidências disponíveis na literatura até o momento provém de trabalhos conduzidos em cultura de células, de testes em modelos animais, ou de testes clínicos mal controlados em humanos.

Assim, torna-se óbvia, a necessidade de mais estudos capazes de confirmar/refutar a relevância da carnosina como antioxidante em humanos, de determinar a magnitude desses supostos efeitos e sua importância para a proteção contra os danos associados ao estresse oxidativo.

Da mesma forma, é ainda incerto se esse potencial antioxidante da carnosina pode ser ergogênico, já que algumas evidências indicam que os radicais livres são essenciais para as adaptações ao treinamento físico aeróbio (Niess e Simon, 2007), e que a suplementação com antioxidantes pode até suprimir esse importante gatilho para adaptações, o que poderia ter efeito ergolítico, em vez de ergogênico (Gomez-Cabrera e colaboradores, 2008; Ristow e colaboradores, 2009).

Sensibilidade ao cálcio e função contrátil muscular

Embora a ação tamponante e antioxidante da carnosina sejam o principal motivo de destaque deste dipeptídeo na literatura atualmente, evidências recentes também têm sugerido que a carnosina pode exercer funções no músculo esquelético relacionadas à melhora na liberação do cálcio do retículo sarcoplasmático, e na sensibilidade do aparato contrátil ao cálcio.

Dutka e Lamb (2004) demonstraram que, em concentrações variando de 4 a 16 mM, a carnosina pode aumentar a sensibilidade dos íons cálcio no aparato contrátil de fibras musculares do músculo extensor longo dos dedos de ratos. Resultados similares provenientes de fibras musculares isoladas do músculo sartório de sapos já foram apresentados por Lamont e Miller (1992).

Tais dados também foram reproduzidos em humanos ao se observar que, em concentrações fisiológicas, a carnosina proporciona um aumento da sensibilidade do cálcio no aparato contrátil de fibras do tipo I e II do músculo vasto lateral.

Também se sugere que a carnosina tenha efeito sobre os receptores de rianodina, aumentando a liberação de íons cálcio. Embora nem todos os estudos apoiem esta hipótese (Dutka e Lamb, 2004), já foi demonstrado que concentrações de carnosina variando de 6 a 17 mM promovem a liberação de íons cálcio tanto em cultura de células musculares de coelhos quanto em fibras musculares isoladas de humanos (Dutka e colaboradores, 2012; Zapata-Sudo e colaboradores, 1997).

Dentre os trabalhos mais recentes, provenientes de amostras musculares do vasto lateral de humanos, Dutka e colaboradores (2012) demonstraram que, sob concentrações fisiológicas (8-16 mM), ocorre um aumento da liberação de íons cálcio em fibras musculares do tipo I, mas não do tipo II. Os autores, entretanto, não apresentam explicações para esta ausência de efeito nas fibras do tipo II.

Considerando-se a importância dos íons cálcio para o processo de contração muscular, fica evidente que essas ações da carnosina podem ter um grande impacto positivo sobre a função contrátil e sobre a fadiga muscular.

No entanto, ainda são escassas as informações acerca dos mecanismos pelos quais a carnosina poderia influenciar o metabolismo do cálcio durante a contração muscular.

Além disso, não está claro até que ponto esses efeitos da carnosina são diretos (isto é, a molécula de carnosina *per se* interfere na sensibilidade e liberação de cálcio) ou indiretos (isto é, a carnosina resulta em melhor regulação ácido-base, e o ambiente celular menos ácido resulta em melhor sensibilidade e maior liberação de cálcio).

Relevância da carnosina para o esporte

Sem dúvida, a fadiga muscular é um dos principais fatores que influenciam o rendimento esportivo. Até hoje ela permanece um fenômeno complexo, multifatorial e não totalmente compreendido.

No que diz respeito aos exercícios físicos de alta intensidade e curta duração, evidências indicam um papel particularmente relevante de alguns eventos no surgimento da fadiga muscular, tais como o acúmulo de íons potássio no interstício da célula muscular, a diminuição da liberação ou da recaptação dos íons cálcio no retículo sarcoplasmático, a depleção de substratos energéticos, e o acúmulo de metabólitos no interior da célula muscular (Fitts, 1994).

Dentre estes eventos, o acúmulo de alguns metabólitos, tais como os íons H^+ , o que leva à queda do pH intramuscular (acidose muscular), tem se destacado como importante causa da fadiga muscular neste tipo de exercício (Allen, Lamb e Westerblad, 2008).

Diversos mecanismos explicam o papel dos íons H^+ sobre o desenvolvimento da fadiga, com destaque para a competição destes íons com os íons Ca^{2+} pelo sítio de ligação da troponina, prejudicando a capacidade da maquinaria contrátil de operar efetivamente (Fabiato e Fabiato, 1978; Donaldson, Hermansen e Bolles, 1978).

Além disso, a queda do pH muscular causada pelos íons H^+ pode levar à inibição da ressíntese de fosforilcreatina (Harris e colaboradores, 1976) e à inibição de enzimas importantes da via glicolítica (Sutton, Jones e Toews, 1981), limitando o processo de produção de energia para a contração muscular. Assim, o corpo humano deve impreterivelmente possuir mecanismos de defesa contra o acúmulo intracelular de íons H^+ muito bem regulados.

Embora mecanismos respiratórios, renais e tampões sanguíneos estejam envolvidos no processo de tamponamento de íons H^+ , mediante a curta duração dos exercícios de alta intensidade, é clara a relevância de defesas tamponantes bem postadas dentro do músculo esquelético, as quais possuam sua pK_a dentro da variação fisiológica do pH muscular.

Dentre as defesas, por possuir uma pK_a de 6.83, a carnosina parece ser o mais fundamental tampão intracelular durante o exercício físico. Portanto, um aumento de suas concentrações dentro das células musculares poderia atrasar o início da fadiga, possibilitando a manutenção de um elevado nível de desempenho por mais tempo.

Uma discussão aprofundada sobre os efeitos do aumento da carnosina muscular (via suplementação de β -alanina) no desempenho físico e esportivo será apresentada na parte II deste artigo, na mesma edição desta revista.

Efeitos da suplementação de β -alanina e washout de carnosina

Conforme já mencionado anteriormente, a síntese endógena de β -alanina é consideravelmente limitada. Uma vez produzida, a β -alanina é liberada na corrente sanguínea e então transportada para diversos tecidos, como o cérebro, o coração e o músculo esquelético. Dentro da célula muscular, a β -alanina sofre a ação da enzima carnosina sintase, a qual condensa a β -alanina a uma L-histidina num processo dependente de Mg^{2+} e ATP (Kalyankar e Meister, 1959). Ressalta-se que a enzima carnosina-sintase exibe afinidade muito maior para a histidina do que para a β -alanina. Além disto, as concentrações plasmáticas e intramusculares de histidina são substancialmente superiores às concentrações de β -alanina (Dunnett e Harris, 1997).

Consequentemente, foi proposto que o ponto limitante para a síntese de carnosina no músculo seria a disponibilidade de β -alanina para a célula muscular.

Investigando tal hipótese, Harris e colaboradores (2006) investigaram se o aumento da disponibilidade de β -alanina, via suplementação, seria capaz de aumentar o conteúdo intramuscular de carnosina.

Antes de avaliar os efeitos crônicos de tal intervenção, os autores conduziram um subestudo agudo de farmacocinética, de forma a avaliar as alterações na β -alanina plasmática após a ingestão aguda de três diferentes doses (10, 20 e 40 $mg \cdot kg^{-1}$ peso corporal). Foi observado que todas as doses induziram um aumento significativo da concentração plasmática de β -alanina, com um notável comportamento "dose-resposta".

Entretanto, a maior dose (40 mg/kg), a qual resultou no maior pico de β -alanina no sangue, induziu sintomas intensos de parestesia (caracterizado pela sensação de "formigamento" da pele), os quais se iniciaram cerca de 20 minutos após a ingestão do aminoácido, e duraram cerca de 1 hora. Esse efeito colateral será abordado em mais

detalhes em tópico adiante, neste mesmo artigo.

A dose intermediária, de 20 mg.kg⁻¹, também levou a sintomas semelhantes, porém menos intensos. Paralelamente, o pico de β-alanina no sangue em resposta à dose intermediária também foi moderado. A dose de 10 mg/kg produziu o menor, e bastante discreto, pico de β-alanina no sangue.

Apesar disso, nenhum efeito colateral foi relatado, indicando que esta é a dose única máxima tolerável, e que os sintomas de parestesia estão associados a elevadas concentrações de β-alanina no plasma.

Após os resultados do subestudo de farmacocinética, em um outro subestudo, os autores investigaram os efeitos crônicos da suplementação (por 4 semanas) da dose máxima tolerável (10 mg.kg⁻¹) de β-alanina sobre o conteúdo muscular de carnosina (Harris e colaboradores, 2006).

Os autores dividiram os participantes em 3 grupos: 1) suplementado com placebo; 2) suplementado com 800 g de β-alanina (equivalente à dose única máxima de 10 mg.kg⁻¹) 4 vezes ao dia, totalizando 3,2 g.d⁻¹ e 3) suplementado com 800 g de β-alanina 8 vezes por dia, totalizando 6,4 g.d⁻¹.

Os resultados mostraram que ambos protocolos foram efetivos no aumento do conteúdo intramuscular de carnosina. Porém, o esquema de maior dose total diária (6,4 g.d⁻¹) tendeu a ser mais efetivo do que a dose de 3,2 g.d⁻¹ (aumento de aproximadamente 60% e 40%, respectivamente, no conteúdo muscular de carnosina).

O aumento de carnosina muscular com as doses acima mencionadas tem sido frequentemente confirmado em estudos subsequentes (Hill e colaboradores, 2007; Derave e colaboradores, 2007; Baguet e colaboradores, 2010; Del Favero e colaboradores, 2012; Kendrick e colaboradores, 2008; Kendrick e colaboradores, 2009).

Por exemplo, Hill e colaboradores (2007) demonstraram aumentos de 60 a 80% no conteúdo muscular de carnosina após a administração de 6,4 g.d⁻¹ durante 4 e 10 semanas, respectivamente.

Além de confirmar os resultados de Harris e colaboradores (2006), os dados de Hill e colaboradores (2007) também sugerem um efeito dose-resposta para o aumento de carnosina muscular em virtude da quantidade

total de β-alanina ingerida ao longo do tempo (ou dose total acumulada). Esse mesmo comportamento já havia sido anteriormente demonstrado em estudos envolvendo equinos (Dunnett e Harris, 1997).

Após o término da suplementação de β-alanina, o *washout* (ou "limpeza") da carnosina é consideravelmente lento, ocorrendo em velocidade estimada de 0.03 mM.d⁻¹. Logo, um aumento de aproximadamente 55% no conteúdo muscular de carnosina exigiria um período de aproximadamente 15 semanas para ser completamente removido do músculo (Baguet e colaboradores, 2009).

Embora dois estudos tenham confirmado esse padrão lento de *washout* de carnosina no músculo (Baguet e colaboradores, 2009; Stellingwerff e colaboradores, 2012), as razões que explicariam esse fato ainda são obscuras, e as teorias, controversas. Alguns autores especulam que a virtual ausência de CN2 no músculo esquelético torne a carnosina um metabólito bastante estável (Everaert e colaboradores, 2012).

Embora cientistas russos tenham sugerido que a enzima CN2 é ausente no músculo esquelético de diversos mamíferos (Boldyrev, 2007), incluindo humanos, o que foi experimentalmente confirmado em roedores (Otani e colaboradores, 2005), Everaert e colaboradores (2013) demonstraram elevada expressão do gene CN2P2 (que codifica a enzima CN2) em amostras de músculo esquelético de humanos.

Vale dizer também que os dois únicos estudos disponíveis acerca do *washout* de carnosina pós suplementação de β-alanina utilizaram Espectroscopia de Ressonância Nuclear Magnética para medir a carnosina muscular, técnica ainda não validada e que possivelmente apresenta elevado erro. Portanto, ainda são necessários mais estudos que confirmem a taxa de *washout* de carnosina no músculo e que identifiquem os mecanismos responsáveis pela suposta estabilidade desse dipeptídeo.

Efeitos colaterais da suplementação de β-alanina

O efeito colateral mais conhecido da suplementação de β-alanina é a parestesia, ou "formigamento" da pele. Tal efeito está

associado ao uso de quantidades de β -alanina superiores a 800 mg (doses superiores a 10 mg/kg), aparecendo geralmente após 30 a 60 minutos da ingestão e desaparecendo 90 a 120 minutos após a ingestão (Harris e colaboradores, 2006).

Uma estratégia eficaz para atenuar esse sintoma é distribuir a administração do suplemento em doses menores ao longo do dia.

Mais recentemente, foram desenvolvidos tabletes de absorção lenta contendo β -alanina, os quais são capazes de aumentar o conteúdo muscular de carnosina e eliminar completamente a parestesia (Decombaz e colaboradores, 2012; Stellingwerff e colaboradores, 2012).

Outro possível efeito colateral está associado à taurina muscular. Conforme destacado nos parágrafos anteriores, é interessante destacar que a proteína responsável pela captação de β -alanina pelos tecidos, a TauT, também realiza o transporte do aminoácido taurina (Jessen, 1994).

Existe, portanto, uma competição entre taurina e β -alanina pelo transportador TauT. A taurina, por sua vez, é um aminoácido beta-sulfônico e desempenha diversas funções importantes, tais como defesa antioxidante, osmorregulação e neurotransmissão (Schaffer e colaboradores, 2003).

Dada a 'competição' entre a β -alanina e a taurina pelo mesmo transportador, passou-se a especular que o tratamento com β -alanina poderia levar à uma diminuição das concentrações intracelulares de taurina devido à menor captação deste aminoácido pelo seu transportador.

Apoiando essa hipótese, Tomonaga e colaboradores (2005) observaram concentrações diminuídas de taurina nas células musculares e cerebrais de galinhas após a administração de 22 mmol de β -alanina por quilograma de peso corporal, duas vezes por dia, durante 5 dias. Similarmente, 3 a 4 semanas de administração de β -alanina (3% em água) já demonstraram diminuir o conteúdo de taurina do fígado, cérebro, coração e músculo esquelético de roedores (Dawson Jr e colaboradores, 2002; Parildar-Karpuzoğlu e colaboradores, 2007).

No entanto, devemos ressaltar que tais estudos foram conduzidos em modelos animais e as quantidades de β -alanina administradas nestes estudos foram

aproximadamente 80-100 vezes mais elevadas do que as doses comumente empregadas em estudos com humanos. Portanto, essas evidências não podem em hipótese alguma ser extrapoladas para os protocolos de suplementação de β -alanina em humanos.

Com base nisso, estudos posteriores surgiram com o intuito de avaliar o efeito dos protocolos mais comuns de suplementação de β -alanina sobre o conteúdo muscular de taurina em humanos.

Harris e colaboradores (2006) não observaram nenhuma alteração significativa na concentração muscular de taurina, tampouco uma perda significativa deste aminoácido na urina.

Subsequentemente, e em concordância com Harris e colaboradores (2006), Hill e colaboradores (2007) não observaram qualquer redução do conteúdo muscular de taurina após 10 semanas de administração de β -alanina em doses similares às de Harris e colaboradores (2006).

Com isso, fica evidenciado que a administração de β -alanina em humanos não interfere de qualquer maneira nas concentrações musculares de taurina.

Por fim, vale mencionar que a suplementação de β -alanina por até 16 semanas tem sido demonstrada absolutamente segura, uma vez que não houve nenhum relato de sintoma, além da parestesia, a despeito do fato de mais 1000 sujeitos já terem sido testados, quando considerados todos os estudos controlados com suplementação de β -alanina em humanos.

Outrossim, estudos com até 16 semanas de suplementação de β -alanina não resultaram em nenhuma alteração de qualquer marcador clínico comumente utilizado para avaliação do estado geral de saúde (Harris e colaboradores, 2006; Hill e colaboradores, 2007).

Portanto, a β -alanina tem se mostrado um suplemento bastante seguro, muito embora estudos com seguimento superiores a 16 semanas sejam necessários para confirmar a segurança da suplementação por períodos mais longos.

CONCLUSÃO

A Carnosina (L-histidina e β -alanina) apresenta papéis fisiológicos importantes no organismo, tais como: tampão intracelular (importância para o campo do esporte e fisiologia do exercício); potente agente antioxidante (queladores de metais de transição); melhora da liberação do cálcio e na sensibilidade do aparato contrátil ao cálcio, além que provável efeito sobre os receptores de rianodina, aumentando a liberação de íons cálcio.

A suplementação de β -alanina é a forma mais efetiva de aumentar a concentração intramuscular da carnosina, uma vez que o fator limitante da síntese de carnosina é a disponibilidade da β -alanina, mostrando efeito “dose-resposta”.

Porém mais estudos são necessários a fim de avaliarem a real influencia sobre o pH muscular durante o exercício; sobre o potencial antioxidante em humanos e os mecanismos sobre o metabolismo de cálcio.

Agradecimentos

Os autores agradecem à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (processos nº 2013/04806-0 e 2013/14746-4).

Os autores declaram que não há conflito de interesse com o tema em questão.

REFERÊNCIAS

- 1-Abe, H. Role of histidine-related compounds as intracellular proton buffering constituents in vertebrate muscle. *Biochemistry (Moscow)*. Vol. 65. Num. 7. 2000. p.757-765.
- 2-Aldini, G.; Orioli, M.; Carini, M.; Maffei Facino, R. Profiling histidine-containing dipeptides in rat tissues by liquid chromatography/electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Journal of Mass Spectrometry*. Vol. 39. Num. 12. 2004. p. 1417-1428.
- 3-Allen, D. G.; Lamb, G. D.; Westerblad, H. Skeletal muscle fatigue: cellular mechanisms. *Physiological Reviews*. vol. 88. num. 1. 2008. p. 287-332.
- 4-Anderson, C. M.; Ganapathy, V.; Thwaites, D. T. Human solute carrier SLC6A14 is the beta-alanine carrier. *The Journal of Physiology*. Vol. 586. Num. 17. 2008. p.4061-4067.
- 5-Artoli, G. G.; Gualano, B.; Smith, A.; Stout, J.; Lancha, A. H. Role of beta-alanine supplementation on muscle carnosine and exercise performance. *Medicine and Science in Sports and Exercise*. Vol. 42. Num. 6. 2010. p.1162-1173.
- 6-Asatoor, A. M.; Bandoh, J. K.; Lant, A. F.; Milne, M. D.; Navab, F. Intestinal absorption of carnosine and its constituent amino acids in man. *Gut*. Vol. 11. Num. 3. 1970. p.250-254.
- 7-Ashikawa, I.; Itoh, K. Raman-spectra of polypeptides containing L-histidine residues and tautomerism of imidazole side-chain. *Biopolymers*. Vol. 18. 1979. p.1859-1876.
- 8-Baguet, A.; Reyngoudt, H.; Pottier, A.; Everaert, I.; Callens, S.; Achten, E.; Derave, W. Carnosine loading and washout in human skeletal muscles. *Journal of Applied Physiology*. Vol. 106. Num. 3. 2009. p.837-842.
- 9-Baguet, A.; Bourgois, J.; Vanhee, L.; Achten, E.; Derave, W. Important role of muscle carnosine in rowing performance. *Journal of Applied Physiology*. Vol. 109. Num. 4. 2010. p.1096-1101.
- 10-Baker, P. R.; Cramer, S. D.; Kennedy, M.; Assimios, D. G.; Holmes, R. P. Glycolate and glyoxylate metabolism in HepG2 cells. *American Journal of Physiology. Cell Physiology*. Vol. 287. Num. 5. 2004. p.1359-1365.
- 11-Batrukova, M. A.; Rubtsov, A. M. Histidine-containing dipeptides as endogenous regulators of the activity of sarcoplasmic reticulum Ca-release channels. *Biochimica et Biophysica Acta*. Vol. 1324. Num. 1. 1997. p.142-150.
- 12-Bauer, K.; Schulz, M. Biosynthesis of carnosine and related peptides by skeletal muscle cells in primary culture. *European Journal of Biochemistry*. Vol. 219. 1994. p.43-47.

- 13-Boldyrev, A. A.; Dupin, A. M.; Pindel, E. V.; Severin, S. E. Antioxidative properties of histidine-containing dipeptides from skeletal muscles of vertebrates. *Comparative Biochemistry and Physiology B*. Vol. 89. Num. 2. 1988. p.245-250.
- 14-Boldyrev, A. A. Carnosine: new concept for the function of an old molecule. *Biochemistry (Moscow)*. Vol. 77. Num. 4. 2007. p.313-326.
- 15-Boldyrev, A. A. Carnosine and Oxidative Stress in Cells and Tissues. New York. Nova Science Publishers Inc. 2012.
- 16-Boldyrev, A. A.; Aldini, G.; Derave, W. Physiology and pathophysiology of carnosine. *Physiological Reviews*. Vol. 93. Num. 4. 2013. p.1803-1845.
- 17-Botka, C. W.; Wittig, T. W.; Graul, R. C.; Nielsen, C. U.; Higaka, K.; Amidon, G. L.; Sadée, W. Human proton/oligopeptide transporter (POT) genes: identification of putative human genes using bioinformatics. *AAPS PharmSci*. Vol. 2. Num. 2. 2000. p.16.
- 18-Broer, S. Amino Acid Transport Across Mammalian Intestinal and Renal Epithelia. *Physiological Reviews*. Vol. 88. Num. 1. 2008. p.249-286.
- 19-Clifford, W. M. The Distribution of Carnosine in the Animal Kingdom. *Biochemistry Journal*. Vol. 15. Num. 6. 1921. p.725-735.
- 20-Costill, D. L.; Verstappen, F.; Kuipers, H.; Janssen, E.; Fink, W. Acid-base balance during repeated bouts of exercise: influence of HCO₃. *International Journal of Sports Medicine*. Vol. 5. 1984. p.228-231.
- 21-Dawson, R. Jr.; Biasetti, M.; Messina, S.; Dominy, J. The cytoprotective role of taurine in exercise-induced muscle injury. *Amino Acids*. Vol. 22. Num. 4. 2002. p.309-324.
- 22-Decombaz, J.; Beaumont, M.; Vuichoud, J.; Bouisset, F.; Stellingwerff, T. Effect of slow-release beta-alanine tablets on absorption kinetics and paresthesia. *Amino Acids*. Vol. 43. Num. 1. 2012. p.67-76.
- 23-Del Favero, S.; Ozdemir, M. S.; Harris, R. C.; Pottier, A.; Reyngoudt, H.; Koppo, K.; Wise, J. A.; Achten, E. Beta-alanine (Carnosyn™) supplementation in elderly subjects (60-80 years): effects on muscle carnosine content and physical capacity. *Amino Acids*. Vol. 43. Num. 1. 2012. p.49-56.
- 24-Den, H.; Robinson, W. G.; Coon, M. J. Enzymatic Conversion of β -Hydroxypropionate to Malonic Semialdehyde. *The Journal of Biological Chemistry*. Vol. 234. 1959. p.1666-1671.
- 25-Derave, W.; Ozdemir, M. S.; Harris, R. C.; Pottier, A.; Reyngoudt, H.; Koppo, K.; Wise, J. A.; Achten, E. Beta-Alanine supplementation augments muscle carnosine content and attenuates fatigue during repeated isokinetic contraction bouts in trained sprinters. *Journal of Applied Physiology*. Vol. 103. Num. 5. 2007. p.1736-1743.
- 26-Derave, W. Use of β -alanine as an ergogenic aid. Nestle Nutrition Institute Workshop Series. Vol. 75. 2013. p.99-108.
- 27-Donaldson, S. K.; Hermansen, L.; Bolles, L. Differential, direct effects of H⁺ on Ca²⁺-activated force of skinned fibers from the soleus, cardiac and adductor magnus muscles of rabbits. *Pflugers Archiv: European Journal of Physiology*. Vol. 376. Num. 1. 1978. p.55-65.
- 28-Drozak, J.; Veiga-da-Cunha, M.; Vertommen, D.; Stroobant, V.; Van Schaftingen, E. Molecular identification of carnosine synthase as ATP-grasp domain-containing protein 1 (ATPGD1). *The Journal of Biological Chemistry*. Vol. 285. 2010. p.9346-9356.
- 29-Dunnett, M.; Harris, R. C. High-performance liquid chromatographic determination of imidazole dipeptides, histidine, 1-methylhistidine and 3-methylhistidine in equine and camel muscle and individual muscle fibres. *Journal of Chromatography*. Vol. 688. Num. 1. 1997. p.47-55.
- 30-Dunnett, M.; Harris, R. C.; Dunnett, C. E.; Harris PA. Plasma carnosine concentration: diurnal variation and effects of age, exercise

- and muscle damage. *Equine Veterinary Journal. Supplement. Vol. 34. 2002. p.283-287.*
- 31-Dutka, T. L.; Lamb, G. D. Effect of carnosine on excitation-contraction coupling in mechanically-skinned rat skeletal muscle. *Journal of Muscle Research and Cell Motility. Vol. 25. Num. 3. 2004. p.203-213.*
- 32-Dutka, T. L.; Lambolley, C. R.; McKenna, M. J.; Murphy, R. M.; Lamb, G. D. Effects of carnosine on contractile apparatus Ca(2)(+) sensitivity and sarcoplasmic reticulum Ca(2)(+) release in human skeletal muscle fibers. *Journal of Applied Physiology. Vol. 112. Num. 5. 2012. p.728-736.*
- 33-Everaert, I.; Taes, Y.; De Heer, E.; Baelde, H.; Zutinic, A.; Yard, B.; Sauerhöfer, S.; Vanhee, L.; Delanghe, J.; Aldini, G.; Derave, W. Low plasma carnosinase activity promotes carnosinemia after carnosine ingestion in humans. *American Journal of Physiology. Renal Physiology. Vol. 302. 2012. p.1537-1544.*
- 34-Everaert, I.; De Naeyer, H.; Taes, Y.; Derave, W. Gene expression of carnosine-related enzymes and transporters in skeletal muscle. *Journal of Applied Physiology. Vol. 113. Num. 5. 2013. p.1169-1179.*
- 35-Fabiato, A.; Fabiato, F. Effects of pH on the myofilaments and the sarcoplasmic reticulum of skinned cells from cardiac and skeletal muscles. *The Journal of Physiology. Vol. 276. 1978. p.233-255.*
- 36-Ferraris, R. P.; Diamond, J.; Kwan, W. W. Dietary regulation of intestinal transport of the dipeptide carnosine. *American Journal of Physiology. Vol. 255. Num. 2. 1988. p.143-150.*
- 37-Fitts, R. H. Cellular mechanisms of muscle fatigue. *Physiological Reviews. Vol. 74. Num. 1. 1994. p.49-94.*
- 38-Fritzson, P. The catabolism of C14-labeled uracil, dihydrouracil, and beta-ureidopropionic acid in rat liver slices. *The Journal of Biological Chemistry. Vol. 226. Num. 1. 1957. p. 223-228.*
- 39-Fritzson, P.; Pihl, A. The catabolism of C14-labeled uracil, dihydrouracil, and beta-ureidopropionic acid in the intact rat. *The Journal of Biological Chemistry. Vol. 226. Num. 1. 1957. p.229-235.*
- 40-Fritzson, P.; Efskind, J. The effect of dietary 2-acetylaminofluorene on the uracil-degrading enzymes in rat liver. *Cancer Research. Vol. 25. 1965. p.703-707.*
- 41-Gomez-Cabrera, M. G.; Domenech, E.; Romagnoli, M.; Arduini, A.; Borrás, C.; Pallardo, F. V.; Sastre, J.; Viña, J. Oral administration of vitamin C decreases muscle mitochondrial biogenesis and hampers training-induced adaptations in endurance performance. *American Journal of Clinical Nutrition. Vol. 87. Num. 1. 2008. p.142-149.*
- 42-Gross M, Boesch C, Bolliger CS, Norman B, Gustafsson T, Hoppeler H, Vogt M. Effects of beta-alanine supplementation and interval training on physiological determinants of severe exercise performance. *European Journal of Applied Physiology. Vol. 114. Num. 2. 2014. p.221-234.*
- 43-Hama, T.; Tamaki, N.; Miyamoto, F.; Kita, M.; Tsunemori, F. Intestinal absorption of beta-alanine, anserine and carnosine in rats. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology (Tokyo). Vol. 22. Num. 2. 1976. p. 147-157.*
- 44-Harris, R. C.; Edwards, R. H.; Hultman, E.; Nordesjo, L. O.; Nylind, B.; Sahlin, K. The time course of phosphorylcreatine resynthesis during recovery of the quadriceps muscle in man. *Pflugers Archiv: European Journal of Physiology. Vol. 367. Num. 2. 1976. p.137-142.*
- 45-Harris, R. C.; Tallon, M. J.; Dunnett, M.; Boobis, L.; Coakley, J.; Kim, H. J.; Fallowfield, J. L.; Hill, C. A.; Sale, C.; Wise, J. A. The absorption of orally supplied Beta-Alanine and its effect on muscle carnosine synthesis in human vastus lateralis. *Amino Acids. Vol. 30. Num. 3. 2006. p.279-289.*
- 46-Hayaishi, O.; Nishizuka, Y.; Tatibana, M.; Takeshita, M.; Kuno, S. Enzymatic studies on the metabolism of beta-alanine. *The Journal of*

Biological Chemistry. Vol. 236. 1961. p.781-790.

47-Hill, C. A.; Harris, R. C.; Kim, H. J.; Harris, B. D.; Sale, C.; Boobis, L. H.; Kim, C. K.; Wise, J. A. Influence of beta-alanine supplementation on skeletal muscle carnosine concentrations and high intensity cycling capacity. *Amino Acids*. Vol. 32. Num. 2. 2007. p.225-233.

48-Hipkiss, A. R.; Cartwright, S. P.; Bromley, C.; Gross, S. R.; Bill, R. M. Carnosine: can understanding its actions on energy metabolism and protein homeostasis inform its therapeutic potential? *Chemistry Central Journal*. Vol. 7. Num. 1. 2013. p.38.

49-Hobson, R. M.; Saunders, B.; Ball, G.; Harris, R. C.; Sale, C. Effects of β -alanine supplementation on exercise performance: a meta-analysis. *Amino Acids*. Vol. 43. Num. 1. 2012. p.25-37.

50-Horinishi, H.; Grillo, M.; Margolis, F. L. Purification and characterization of carnosine synthetase from mouse olfactory bulbs. *Journal of Neurochemistry*. Vol. 31. Num. 4. 1978. p.909-919.

51-Ischiropoulos, H.; Beckman, J. S. Oxidative stress and nitration in neurodegeneration: cause, effect, or association? *The Journal of Clinical Investigation*. Vol. 111. Num. 2. 2003. p.163-169.

52-Jessen, H. Taurine and beta-alanine transport in an established human kidney cell line derived from the proximal tubule. *Biochimica et Biophysica Acta*. Vol. 1194. Num. 1. 1994. p.44-52.

53-Kalyankar, G. D.; Meister, A. Enzymatic synthesis of carnosine and related beta-alanyl and gamma-aminobutyryl peptides. *The Journal of Biological Chemistry*. Vol. 234. 1959. p.3210-3218.

54-Kang, J. H.; Kim, K. S.; Choi, S. Y.; Kwon, H. Y.; Won, M. H.; Kang, T. C. Protective effects of carnosine, homocarnosine and anserine against peroxyl radical-mediated Cu, Zn superoxide dismutase modification. *Biochimica et Biophysica Acta*. Vol. 1570. Num. 2. 2002. p.89-96.

55-Kelly, V. G.; Jenkins, D. G.; Leveritt, M. D.; Brennan, C. T.; Slater, G. J. Evaluation of the prevalence, knowledge and attitudes relating to β -alanine use among athletes. *British Journal of Sports Medicine*. Vol. 47. 2013. p.4.

56-Kendrick, I. P.; Harris, R. C.; Kim, H. J.; Kim, C. K.; Dang, V. H.; Lam, T. Q.; Bui, T. T.; Smith, M.; Wise, J. A. The effects of 10 weeks of resistance training combined with beta-alanine supplementation on whole body strength, force production, muscular endurance and body composition. *Amino Acids*. Vol. 34. Num. 4. 2008. p.547-554.

57-Kendrick, I. P.; Kim, H. J.; Harris, R. C.; Kim, C. K.; Dang, V. H.; Lam, T. Q.; Bui, T. T.; Wise, J. A. The effect of 4 weeks beta-alanine supplementation and isokinetic training on carnosine concentrations in type I and II human skeletal muscle fibres. *European Journal of Applied Physiology*. Vol. 106. Num. 1. 2009. p.131-138.

58-Kohen, R.; Yamamoto, Y.; Cundy, K. C.; Ames, B. N. Antioxidant activity of carnosine, homocarnosine, and anserine present in muscle and brain. *Proceedings of The National Academy of Sciences of the United States of America*. Vol. 85. Num. 9. 1988. p.175-179.

59-Lamont, C.; Miller, D. J. Calcium sensitizing action of carnosine and other endogenous imidazoles in chemically skinned striated muscle. *The Journal of Physiology*. Vol. 454. 1992. p.421-434.

60-Matthews, M. M.; Traut, T. W. Regulation of N-carbamoyl-beta-alanine amidohydrolase, the terminal enzyme in pyrimidine catabolism, by ligand-induced change in polymerization. *The Journal of Biological Chemistry*. Vol. 262. Num. 15. 1987. p.7232-7237.

61-Matthews, M. M.; Liao, W.; Kvalnes-Krick, K. L.; Traut, T. W. Beta-Alanine synthase: purification and allosteric properties. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. Vol. 293. Num. 2. 1992. p.254-263.

62-McManus IR. Some metabolic precursors of the N-1-methyl group of anserine in the rat. *The Journal of Biological Chemistry*. Vol. 225. Num. 1. 1957. p.325-333.

- 63-Miyamoto, Y.; Nakamura, H.; Hoshi, T.; Ganapathy, V.; Leibach, F. H. Uphill transport of beta-alanine in intestinal brush-border membrane vesicles. *American Journal of Physiology*. Vol. 259. Num. 3. 1990. p.372-379.
- 64-Navab, F.; Beland, S. S.; Cannon, D. J.; Texter, E. C. Jr. Mechanisms of transport of L-histidine and beta-alanine in hamster small intestine. *American Journal of Physiology*. Vol. 247. Num. 1. 1984. p.43-51.
- 65-Ng, R. H.; Marshall, F. D. Regional and subcellular distribution of homocarnosine-carnosine synthetase in the central nervous system of rats. *Journal of Neurochemistry*. Vol. 30. Num. 1. 1978. p.87-90.
- 66-Niess, A. M.; Simon, P. Response and adaptation of skeletal muscle to exercise – the role of reactive oxygen species. *Frontiers in Bioscience*. Vol. 12. 2007. p.4826-4838.
- 67-O'Dowd, J.J.; Robins, D.J.; Miller, D.J. Detection, characterisation, and quantification of carnosine and other histidyl derivatives in cardiac and skeletal muscle. *Biochimica et Biophysica Acta*. Vol. 967. Num. 2. 1988. p.241-249.
- 68-Otani, H.; Okumura, N.; Hashida-Okumura, A.; Nagai, K. Identification and characterization of a mouse dipeptidase that hydrolyzes L-carnosine. *Journal of Biochemistry*. Vol. 137. Num. 2. 2005. p.167-175.
- 69-Parildar-Karpuzoğlu, H.; Doğru-Abbasoğlu, S.; Balkan, J.; Aykaç-Toker, G.; Uysal, M. Decreases in taurine levels induced by beta-alanine treatment did not affect the susceptibility of tissues to lipid peroxidation. *Amino Acids*. Vol. 32. Num. 1. 2007. p.115-119.
- 70-Park, Y. J.; Volpe, S. L.; Decker, E. A. Quantitation of carnosine in humans plasma after dietary consumption of beef. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Vol. 53. Num. 12. 2005. p.4736-4739.
- 71-Perry, T. L.; Hansen, S.; Gandham, S. S. Postmortem changes of amino compounds in human and rat brain. *Journal of Neurochemistry*. Vol. 36. 1981. p.406-412.
- 72-Pavlov, A. R.; Revina, A. A.; Dupin, A. M.; Boldyrev, A. A.; Yaropolov, A. I. The mechanism of interaction of carnosine with superoxide radicals in water solutions. *Biochimica et Biophysica Acta*. Vol. 1157. Num. 3. 1993. p.304-312.
- 73-Ristow, M.; Zarse, K.; Oberbach, A.; Klötting, N.; Birringer, M.; Kiehnopf, M.; Stumvoll, M.; Kahn, C. R.; Blüher, M. Antioxidants prevent health-promoting effects of physical exercise in humans. *Proceedings of The National Academy of Sciences of the United States of America*. Vol. 106. Num. 21. 2009. p.8665-8670.
- 74-Sakamoto, T.; Sakata, S. F.; Matsuda, K.; Horikawa, Y.; Tamaki, N. Expression and properties of human liver beta-ureidopropionase. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology (Tokyo)*. Vol. 47. Num. 2. 2001. p.132-138.
- 75-Sala-Rabanal, M.; Loo, D. D.; Hirayama, B. A.; Turk, E.; Wright, E. M. Molecular interactions between dipeptides, drugs and the human intestinal H⁺-oligopeptide cotransporter hPEPT1. *The Journal of Physiology*. Vol. 574. Num. 1. 2006. p.149-166.
- 76-Sale, C.; Artioli, G. G.; Gualano, B.; Saunders, B.; Hobson, R. M.; Harris, R. C. Carnosine: from exercise performance to health. *Amino Acids*. Vol. 44. Num. 6. 2013. p.1477-1491.
- 77-Sayre, L. M.; Smith, M. A.; Perry, G. Chemistry and biochemistry of oxidative stress in neurodegenerative disease. *Current Medicinal Chemistry*. Vol. 8. Num. 7. 2001. p.721-738.
- 78-Schaffer, S.; Azuma, J.; Takahashi, K.; Mozaffari, M. Why is taurine cytoprotective? *Advances in Experimental Medicine and Biology*. Vol. 526. 2003. p.307-321.
- 79-Severin, S. E.; Kirzon, M. V.; Kaftanova, T. M. Effect of carnosine and anserine on action of isolated frog muscles. *Doklady Akademii Nauk SSSR*. Vol. 91. Num. 3. 1953. p.691-694.

80-Snyder, S. H. Brain peptides as neurotransmitters. *Science*. Vol. 209. Num. 4460. 1980. p.976-983.

81-Stellingwerff, T.; Anwender, H.; Egger, A.; Buehler, T.; Kreis, R.; Decombaz, J.; Boesch, C. Effect of two β -alanine dosing protocols on muscle carnosine synthesis and washout. *Amino Acids*. Vol. 42. Num. 6. 2012. p.2461-2472.

82-Sutton, J. R.; Jones, N. L.; Toews, C. J. Effect of PH on muscle glycolysis during exercise. *Clinical Sciences (London)*. Vol. 61. Num. 3. 1981. p.331-338.

83-Tanokura, M.; Tasumi, M.; Miyazawa, T. ¹H nuclear magnetic resonance studies of histidine-containing di- and tripeptides. Estimation of the effects of charged groups on the pKa value of the imidazole ring. *Biopolymers*. Vol. 15. Num. 2. 1976. p.393-401.

84-Tomonaga, S.; Tachibana, T.; Takahashi, H.; Sato, M.; Denbow, D. M.; Furuse, M. Nitric oxide involves in carnosine-induced hyperactivity in chicks. *European Journal of Pharmacology*. Vol. 524. Num. 1-3. 2005. p.84-88.

85-Velez, S.; Nair, N. G.; Reddy, P. Transition metal ion binding studies of carnosine and histidine: Biologically relevant antioxidants. *Colloids and Surfaces. B, Biointerfaces*. Vol. 66. Num. 2. 2008. p.291-294.

86-Williamson, J. M.; Brown, G. M. Purification and properties of L-Aspartate-alpha-decarboxylase, an enzyme that catalyzes the formation of beta-alanine in *Escherichia coli*. *The Journal of Biological Chemistry*. Vol. 254. Num. 16. 1979. p.8074-8082.

87-Xiang, J.; Hu, Y.; Smith, D. E.; Keep, R. F. PEPT2-mediated transport of 5-aminolevulinic acid and carnosine in astrocytes. *Brain Research*. Vol. 22. Num. 1. 2006. p.18-23.

88-Zwarycz, B.; Wong, E. A. Expression of the peptide transporters PepT1, PepT2, and PHT1 in the embryonic and posthatch chick. *Poultry Science*. Vol. 92. Num. 5. 2013. p.13.

89-Zapata-sudo, G.; Sudo, R. T.; Lin, M.; Nelson, T. E. Calcium-sensitizing function for the dipeptide carnosine in skeletal muscle contractility. *Cellular Physiology and Biochemistry*. Vol. 7. 1997. p.81-92.

Endereço para correspondência:
Prof. Dr. Guilherme Giannini Artioli
Avenida Professor Melo de Moraes, 65.
Cidade Universitária – Butantã.
São Paulo, SP - Brasil.
CEP: 05508-030.

Recebido para publicação em 06/10/2014
Aceito em 27/05/2014