

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS**  
**FACULDADE DE NUTRIÇÃO**  
**MESTRADO EM NUTRIÇÃO**

***METFORMINA COMO RECURSO ERGOGÊNICO  
ASSOCIADA À SUPLEMENTAÇÃO DE CARBOIDRATO  
SOBRE A CAPACIDADE ANAERÓBIA***

**SARA KELLY LEARSI DA SILVA SANTOS**

**MACEIÓ, 2014**

**SARA KELY LEARSI DA SILVA SANTOS**

***METFORMINA COMO RECURSO ERGOGÊNICO  
ASSOCIADA À SUPLEMENTAÇÃO DE CARBOIDRATO  
SOBRE A CAPACIDADE ANAERÓBIA***

Dissertação apresentada à Faculdade de Nutrição da Universidade Federal de Alagoas, como requisito à obtenção do título de Mestre em Nutrição.

Orientador(a): **Prof. Dr. Gustavo Gomes de Araujo**  
Centro de Educação- CEDU  
Universidade Federal de Alagoas

**MACEIÓ-2014**



**MESTRADO EM NUTRIÇÃO**  
**FACULDADE DE NUTRIÇÃO**  
**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS**



Campus A. C. Simões  
BR 104, km 14, Tabuleiro dos Martins  
Maceió-AL 57072-970  
Fone/fax: 81 3214-1160

---

**PARECER DA BANCA EXAMINADORA DE DEFESA DE  
DISSERTAÇÃO**

**“METFORMINA COMO RECURSO ERGOGÊNICO ASSOCIADA À  
SUPLEMENTAÇÃO DE CARBOIDRATO SOBRE A CAPACIDADE  
ANAERÓBIA”**

por

***Sara Kely Learsi da Silva Santos***

A Banca Examinadora, reunida aos 18 dias do mês de Março do ano de 2014, considera a candidata **APROVADA**.

---

Prof. Dr. Gustavo Gomes de Araújo  
Centro de Educação  
Universidade Federal de Alagoas  
(Orientador)

---

Prof. Dr. Adriano Eduardo Lima Silva  
Faculdade de Nutrição  
Universidade Federal de Alagoas  
(Examinador)

---

Prof. Dr. Rômulo Cássio de Moraes Bertuzzi  
Escola de Educação Física e Esporte

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO – MESTRADO**  
**Avaliação - Pré-Defesa de Dissertação**

**IDENTIFICAÇÃO**

<b>Aluno(a):</b> Sara Kely Learsi da Silva Santos	
<b>Orientador(a):</b> Gustavo Gomes de Araujo	
<b>Título da Dissertação:</b> METFORMINA COMO RECURSO ERGOGÊNICO ASSOCIADA À SUPLEMENTAÇÃO DE CARBOIDRATO SOBRE A CAPACIDADE ANAERÓBIA	
<b>Examinador(a):</b>	
<b>Instituição:</b> Universidade de São Paulo	
<b>Data de recebimento:</b>	<b>Data de envio:</b>

**AVALIAÇÃO**

CRITÉRIOS	SIM	NÃO
<b>Título:</b> clareza, objetividade.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<b>Resumo:</b> clareza e objetividade em relação aos objetivos, ênfase dos principais resultados.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<b>Abstract:</b> traduzido de forma coerente ao Resumo?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<b>Palavras-chave/Keywords:</b> sugestão de alterações?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<b>Introdução e Revisão da Literatura:</b> contextualização do objeto de estudo, pertinência, identificação da relevância do estudo e sequência lógica da redação.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<b>Objetivos:</b> foram alcançados?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<b>Métodos:</b> adequação e clareza.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<b>Resultados:</b> clareza, compatibilidade entre resultados e objetivos do trabalho, adequação de figuras e tabelas.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<b>Discussão:</b> interpretação dos resultados e sua relação com fundamentos teóricos, citação de outras publicações e associação com os resultados do estudo.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<b>Conclusões:</b> identificação com os resultados e relação com o objetivo da dissertação.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<b>Referências:</b> amplitude da bibliografia, adequação às normas técnicas do PPGNUT-UFAL.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<b>Há necessidade de Anexos ou Apêndices?</b>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<b>Dissertação aprovada para ser defendida?</b>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<b>Comentários/Sugestões/Correções:</b>		

Maceió, 18 de março de 2014.

\_\_\_\_\_  
Examinador

*Dedico esta dissertação à Deus.*

*Meu Senhor fiel e melhor amigo.*

## AGRADECIMENTOS

Em Lucas 17. 11-19, é apresentada uma história em que Jesus curou dez pessoas. No entanto, após curados apenas um homem lembrou de ser grato. Acredito que não sou a única que agradece a Deus pelas bênçãos que recebe, mas certamente, não sou uma das nove pessoas que esquecem. Obrigada Deus por me ajudar a vencer cada etapa. Eu me esforcei, mas o Senhor me deu a força que eu precisava. Por ter conhecido os professores que me inspiram a seguir esse caminho: Prof. Dr. Gustavo Gomes de Araujo e Prof. Dr. Adriano Eduardo Lima Silva.

Ao meu orientador Dr. Gustavo Gomes de Araujo por esses dois anos de estudos. Obrigada por me ajudar sem medir esforços! Pela sinceridade ao citar meus erros (“Aquele que quer aprender gosta que lhe digam quando está errado; só o tolo não gosta de ser corrigido” – Pv. 12.1). Obrigada pelas oportunidades que você me proporcionou e pelo encorajamento que sempre me deu. Você é um exemplo que eu quero seguir.

Ao Dr. Adriano Eduardo Lima Silva, que em 2009 quando assisti sua aula pela primeira vez, decidi o que queria fazer após concluir o curso de Educação Física. Agradeço pela sua ajuda nesses dois anos, pelas discussões sobre a minha dissertação. Pelas ricas oportunidades! Uma vez você me disse: “Sara, você é pobre mesmo não é? Eu tou te “atrapalhando” (na verdade você disse outra palavra) e você ainda me agradece!”. Sempre me atrapalhe então!

Aos meus amigos do mestrado: Victor Bastos (por estar comigo em todas as fases de coletas e análises de dados), Kleiner Nemézio, Victor Souza, João Paulo Lopes, Leandro Camati e Thaysa Ghiaroni. Também ao Sérgio Franco, pelo enorme apoio nas coletas. Vocês tornaram momentos estressantes em inesquecíveis. Obrigada pela ajuda dada nas discussões e pelo apoio.

Ao Laboratório de Aptidão Física, Desempenho e Saúde (LAFIDES) do Curso de Educação Física da UFAL, Laboratório de Nutrição Experimental do Curso de Nutrição da UFAL e à CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pelo apoio concedido.

E por fim, mas não menos importante, agradeço à minha família, que é a minha riqueza. Meus pais, Israel Santos e Genaura da Silva Santos, que são meu porto seguro. Exemplos de sabedoria, persistência, inteligência e temor a Deus. Obrigada por me apoiarem nas minhas escolhas, por orarem e lutarem por mim sempre! Eu os amo muito paiinho e mainha!

Meu esposo, Marcos César. Você é realmente um presente que veio na hora certa! Obrigada por transformar os meus problemas em seus problemas e ainda resolvê-los pra mim! Pelo seu cuidado, amor e por me ouvir quando eu precisei (e ouviu muito!). Te amo muito, sempre vou amar.

Meus irmãos, Islan Learsi, Keylla Learsi e Charles Alves (cunhado e irmão) por terem paciência de me ouvir falar o tempo todo das mesmas coisas... metformina... maod... lactato... rs. Vocês estão defendendo essa dissertação comigo, porque não é fácil passar pelo que vocês passaram! Obrigada por me apoiarem e se preocuparem comigo. Pelas orações, pelos conselhos e pelas dicas de como apresentar melhor, eu amo vocês!

E finalmente, obrigada Hadassa, minha sobrinha linda de apenas 10 meses, que é a minha mais nova inspiração para viver da melhor forma possível.

## RESUMO

A ingestão de carboidrato (CHO) tem sido usada como uma forma para melhorar o desempenho esportivo. Algumas pesquisas apontam que a suplementação de CHO em exercícios anaeróbios não provoca efeitos ergogênicos. No entanto, outros autores afirmam que o CHO pode ser uma importante fonte energética em atividades intensas e de curta duração quando administrado em altas concentrações. A metformina é utilizada por diabéticos como um anti-hiperglicemiante oral. Seus mecanismos envolvem a diminuição da produção de glicose hepática e aumento da captação de glicose pela musculatura esquelética. Estudos têm associado a ingestão de metformina com o exercício físico, na intenção de maximizar os seus efeitos. Visando contribuir com a discussão do problema, este estudo apresenta três artigos: 1) um artigo de revisão sistemática, que aborda os efeitos da ingestão de carboidrato na melhoria da capacidade anaeróbia. Em adicional, aborda também a administração de metformina associada ao exercício, demonstrando seus efeitos de redução da glicemia e diminuição do peso corporal; 2) um artigo experimental com o objetivo de verificar os efeitos da ingestão de metformina isolada e associada à suplementação de carboidrato sobre um método clássico para estimativa da capacidade anaeróbia (MAOD) e 3) um artigo experimental com o objetivo de verificar os efeitos da ingestão de metformina isolada e associada à suplementação de carboidrato sobre um método alternativo de estimar a capacidade anaeróbia (MAOD<sub>ALT</sub>).

**Palavras-chave: Máximo Déficit de Oxigênio Acumulado; Captação de glicose; Anti-hiperglicemiante.**



## ABSTRACT

Carbohydrate (CHO) intake has been used as a way to improve sports performance. Some researches indicate that CHO supplementation on anaerobic exercise causes no ergogenic effects. However, other authors claim that the CHO can be an important energy source for intense activities and short duration when administered at high concentrations. Metformin is used by diabetics as an oral antihyperglycaemic. Its mechanisms involve decreased hepatic glucose production and increased glucose uptake by skeletal muscle. Studies have associated with the intake of metformin exercise, intending to maximizing its effects. To contribute to the discussion of the problem, this study presents three articles: 1) A systematic review article which discusses the effects of carbohydrate intake on improving anaerobic capacity.

In additional, also addresses metformin associated with exercise, demonstrating the effects of reducing blood glucose and decreased body weight; 2) An experimental paper in order to observe the effects of the intake of metformin alone and associated with carbohydrate supplementation on a classical method to estimate the anaerobic capacity (MAOD); 3) An experimental paper in order to observe the effects of the intake of metformin alone and associated with carbohydrate supplementation on an alternative method to estimate the anaerobic capacity (MAOD<sub>ALT</sub>)

**Key-words: Maximum accumulated oxygen deficit; Glucose Uptake; Anti-hyperglycaemic.**

## LISTA DE FIGURAS

	<b>Página</b>	
<b>2º artigo: Artigo experimental</b>		
Figura 1	(A) Individual values of MAOD in each condition. (B) Average and standard deviation of the four experimental sessions.....	52
<b>3º artigo: Artigo experimental</b>		
Figura 1	Average and standard deviation of MAOD.....	66
Figura 2	(A) Perceptual of change in the metformin and metformin and carbohydrate conditions in relation to placebo. (B) Average of the perceptual of change of MAOD.....	67
Figura 3	Percentage of lactic contribution in the four condition .....	68

## LISTA DE TABELAS

### 1º artigo: artigo de revisão

Tabela 1	Representação dos estudos que analisaram a ingestão de carboidrato como recurso ergogênico para o desempenho anaeróbio.....	26
----------	---	----

### 2º artigo: artigo de resultados

Tabela 1	Sample characterization.....	51
----------	------------------------------	----

Tabela 2	Rating of Perceived Exertion initial (RPEi) and final (RPEf), time out and lactate peak.....	52
----------	--	----

### 3º artigo: artigo de resultados

Tabela 1	Sample characterization.....	66
----------	------------------------------	----

Tabela 2	Rating of Perceived Exertion initial (RPEi) and final (RPEf), time out and lactate peak.....	68
----------	--	----

## LISTA DE ABREVIATURAS

CAN – Capacidade anaeróbia

Ca<sup>++</sup> - Cálcio

ATP – adenosina trifosfato

ADP – adenosina difosfato

AMP – adenosina monofosfato

AMPK – proteína quinase ativada por AMP

CP – creatina fosfato

Pi – Fosfato inorgânico

MAOD - Máximo Déficit de Oxigênio Acumulado

MAOD<sub>ALT</sub> - Máximo Déficit de Oxigênio Acumulado Alternativo

EPOC<sub>FAST</sub> – Componente rápido do Consumo excessivo de Oxigênio após o

Exercício

O<sub>2</sub> – Oxigênio

# SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO GERAL.....</b>	<b>16</b>
<b>2. COLETÂNEA DE ARTIGOS.....</b>	<b>19</b>
<b>2.1. 1º artigo: artigo de revisão</b> Ingestão de carboidrato e metformina associados ao exercício.....	20
<b>2.2. 2º artigo: artigo de resultados</b> Metformin associated with carbohydrate supplementation improves the anaerobic capacity?.....	45
<b>2.3. 3º artigo: artigo de resultados</b> Metformin associated with carbohydrate supplementation do not improves the maod and lactic contribution.....	60
<b>3. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>74</b>
<b>4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>76</b>
<b>5. APÊNDICES.....</b>	<b>80</b>
<b>6. ANEXOS.....</b>	<b>87</b>

## **1 INTRODUÇÃO GERAL**

Em diabéticos, a incapacidade das células betas pancreáticas para a secreção da insulina, juntamente com a resistência tecidual periférica a esse hormônio, resulta em um estado de hiperglicemia, elevando assim os riscos de morbidade vascular entre outras complicações (WULFFELÉ et al., 2004). O tratamento do diabetes tipo 2 requer algumas intervenções medicamentosas quando não se consegue reduzir os sintomas apenas com mudanças no estilo de vida. Dentre os fármacos mais utilizados, a metformina vem sendo considerada um dos principais agentes anti-hiperglicemiantes responsáveis pela diminuição da resistência periférica, precaução da hiperinsulinemia, benefícios no controle lipídico, e diminuição do risco de acidentes vasculares (KALKHOFF et al., 1993; LEVRI et al., 2005). O tratamento farmacológico com metformina tem o objetivo de reduzir a glicemia de modo que as células exerçam função normalizada de captação e síntese de glicose (DE ARAUJO et al., 2007).

Por outro lado, a atividade física promove benefícios periféricos de modo semelhante à ação da metformina no sentido de aumentar a: sensibilidade de insulina, translocação de transportadores para os principais sítios de armazenamento (GLUT 4 e GLUT 2) e sensibilidade da reação Insulina/Receptor IRS (*Insulin Receptor Substrate*) resultando num melhor controle da glicemia (TANG e REED, 2001; BAILEY, 2005). Tem sido demonstrado que a metformina aumenta o consumo de glicose pelo músculo esquelético (STRIJCKMANS, 1985; INZUCCHI, 1998), mas ainda não se conhece sua possível contribuição ergogênica em esportistas que buscam aumentar a capacidade anaeróbia (CAN) com fins de performance atlética. De Araujo et al. (2007) verificaram que as respostas geradas por uma sessão aguda de exercício em ratos obesos foram semelhantes às ações medicamentosas do grupo metformina e que a ação do exercício (30 min de natação sem carga adicional) associado ao tratamento com metformina pode potencializar os efeitos de síntese e captação de glicose pela musculatura esquelética. A partir dessas constatações, fica evidente a facilitação da metformina no processo de síntese de glicose pelo músculo esquelético.

A suplementação de carboidrato tem sido associada à rotina de treinamento para potencializar a CAN por meio da síntese de glicogênio bem como retardar a fadiga durante o esforço (MCINERNEY et al., 2005). Especificamente, os efeitos da suplementação de carboidrato sobre a *performance* têm sido atribuídos ao:

aumento da síntese de glicogênio muscular durante o repouso, maior tempo de duração da glicólise anaeróbia e conseqüente retardo na fadiga durante o esforço, manutenção das funções das bombas de  $Ca^{++}$ , inibição do catabolismo proteico (LIMA-SILVA et al., 2007). Segundo McInerney et al. (2005), a ingestão de carboidrato durante o exercício pode retardar a fadiga em até 30-60 min. No entanto, ainda é desconhecido o efeito da suplementação de carboidrato associado à ação da metformina no aumento da CAN.

A CAN pode ser definida como a quantidade máxima de energia despendida no exercício anaeróbio a partir da utilização dos estoques intramusculares de fosfagênios (adenosina trifosfato – ATP e creatina fosfato, CP) e da glicólise anaeróbia, com conseqüente formação de lactato (GREEN e DAWSON, 1993). Muitos métodos foram estabelecidos com o objetivo de mensurar a CAN. As mensurações diretas dos níveis intramusculares de fosfocreatina, creatina, ATP, ADP, fosfato inorgânico (Pi), ácido láctico, glicogênio muscular e enzimas anaeróbias fornecem informações precisas em relação a capacidade e o metabolismo anaeróbio mas requerem técnicas invasivas dificultando a aplicação em seres humanos (VANDEWALLE et al., 1987). Por não existir um método universalmente aceito como padrão ouro (gold standard), o MAOD (máximo déficit de oxigênio acumulado), vem sendo aplicado no propósito de determinar a capacidade anaeróbia (HILL et al., 1996).

O MAOD foi proposto por Medbo em 1988, que é estabelecido pela subtração do oxigênio ( $O_2$ ) medido durante o período do esforço supramáximo, da demanda estimada de  $O_2$ , sendo que o segundo é determinado mediante a projeção da relação entre  $O_2$  e intensidade de vários testes submáximos (BERTUZZI et al., 2007). No entanto, a necessidade de muitas sessões de coleta de dados para compor um desenho experimental, tem se tornado uma das principais desvantagens de se utilizar o MAOD como medida da CAN (GARDNER et al., 2003). De acordo com as preconizações de Medbo et al. (1988), são necessárias cerca de 10-20 sessões, com 10 minutos de duração. Em virtude dessa dificuldade de aplicabilidade, Bertuzzi et al. (2010) propuseram uma técnica em cicloergômetro que envolve a realização de apenas uma sessão experimental, que consistiu de um teste exaustivo supramáximo para a estimativa do MAOD. Em seu estudo, a comparação entre os valores do cálculo do MAOD clássico (adquirido após seis testes submáximos e um teste supramáximo) e do MAOD



alternativo ( $MAOD_{ALT}$  - obtido através da soma do componente rápido do excesso de consumo de oxigênio pós-exercício [ $EPOC_{FAST}$ ] e  $O_2$  equivalente ao acúmulo de lactato sanguíneo) não apresentou diferenças significativas, demonstrando que o  $MAOD_{ALT}$  pode ser utilizado para estimar o MAOD.

Assim, o objetivo do presente estudo foi fazer uma análise sobre os efeitos da ingestão de metformina associada ao exercício, assim como verificar os efeitos da ingestão de carboidrato em exercícios intensos e de curta duração, que tenham a finalidade de mensurar a CAN. Por meio de dois artigos experimentais, objetivamos verificar os efeitos da ingestão de metformina associada ou não à suplementação de carboidrato sobre a CAN mensurada pelo MAOD clássico e  $MAOD_{ALT}$ , respectivamente. A hipótese é que a metformina aumente a CAN e consequentemente o desempenho anaeróbio.



**1º artigo: Artigo de Revisão**

**Ingestão de carboidrato e metformina associados ao exercício.**

Revista que será submetido: Revista Brasileira de Cineantropometria e desempenho humano.

## **RESUMO**

A ingestão de carboidrato (CHO) tem sido usada como uma forma de melhorar o desempenho esportivo. Algumas pesquisas apontam que a suplementação de CHO em exercícios anaeróbios não provoca efeitos ergogênicos. No entanto, outros autores afirmam que o CHO pode ser uma importante fonte energética em atividades intensas e de curta duração quando administrado em altas concentrações. A metformina é utilizada por diabéticos como um anti-hiperglicemiante oral. Seus mecanismos envolvem a diminuição da produção da glicose hepática e aumento da captação de glicose pela musculatura esquelética. Estudos têm associado a ingestão de metformina com o exercício físico, na intenção de maximizar os seus efeitos. Este artigo apresenta uma revisão sistemática, tendo como objetivo investigar os efeitos da ingestão de carboidrato sobre a capacidade anaeróbia e os efeitos da combinação da metformina com o exercício. Foi realizada uma busca na literatura onde obteve-se um total de 14 artigos sobre os temas propostos. Foi concluído que a suplementação em altas concentrações de CHO, como também a administração de dietas com alto teor de CHO apresentaram contribuições para a melhoria da CAN e conseqüentemente do desempenho anaeróbio. Além disso, a combinação de metformina com exercício não apresenta risco de hipoglicemia, além de ajudar na manutenção do peso corporal.

**PALAVRAS-CHAVE: Glicemia; Capacidade Anaeróbia; GLUT4.**

## **ABSTRACT**

Carbohydrate (CHO) intake has been used as a way to improve sports performance. Some researches indicate that CHO supplementation on anaerobic exercise causes no ergogenic effects. However, other authors claim that the CHO can be an important energy source for intense activities and short duration when administered at high concentrations. Diabetics use metformin as an oral antihyperglycaemic. Its mechanisms involve decreased hepatic glucose production and increased glucose uptake by skeletal muscle. Studies have associated with the intake of metformin exercise, intending to maximize its effects. This article presents a systematic review, aiming to investigate the effects of carbohydrate supplementation on CAN, and the effects of the combination of metformin with exercise. Was performed a literature search which yielded 14 articles on the topics proposed. It was concludes that supplementation in high concentrations of CHO as well as administration of diets with high concentrations of CHO, could aid in improving AC and consequently anaerobic performance. In addition, the combination of metformin with exercise presents no risk of hypoglycemia, as well as help in maintaining body weight.

**KEYWORDS: Glycaemia; Anaerobic Capacity; GLUT4.**

## INTRODUÇÃO

A ingestão de CHO pode ser administrada na dieta (HARGREAVES et. al., 1996; MCMURRAY et. al., 1991; LANGFORT et. al., 1997) ou como forma de suplementação, sendo realizadas antes (BALL et. al., 1995; LEE et. al., 2011) e/ou durante (HAFF et. al., 2001) o exercício. Afirma-se que o CHO pode ser uma importante fonte energética em atividades intensas e de curta duração quando administrado em altas concentrações (MITCHELL et. al., 1989; JEUKENDRUP, 2004). No entanto, apesar da maioria dos estudos relatarem que a suplementação com carboidrato é uma estratégia nutricional importante para melhora do desempenho esportivo em provas de longa duração, poucas pesquisas estudam os efeitos dessa intervenção na capacidade anaeróbia (CAN). A quantidade máxima de ATP que pode ser resintetizada durante o exercício por processos anaeróbios, como a degradação do glicogênio e fosfocreatina intramusculares, tem sido definida como capacidade anaeróbia (GREEN e DAWSON, 1993; MEDBO et. al., 1988). Admite-se que a capacidade para sustentar a intensidade de um exercício máximo e de curta duração é dependente dos estoques de energia anaeróbia que, quando se esgota, determina a exaustão (MORTON e BILLAT, 1999; BERTUZZI et. al., 2010).

A biópsia muscular é um método para quantificar a CAN, que inclui a medição direta dos níveis de fosfocreatina, creatina, ATP, ADP e lactato sanguíneo. No entanto, devido à natureza invasiva deste método, e, assim, uma falta de aplicabilidade a uma população mais ampla, pesquisadores estão à procura de um processo não invasivo e de fácil aplicabilidade (HILL et. al., 2002; RAMSBOTTOM et. Al., 1997). Dessa forma, tem sido sugerido que o fornecimento máximo de energia anaeróbia durante exercícios em esteira e bicicleta pode ser estimado de forma não invasiva por meio da determinação do déficit máximo de oxigênio acumulado (MAOD) durante 2-3 min de exercício exaustivo (MEDBO et. al., 1988; MEDBO e TABATA, 1989). O MAOD é utilizado para estimar o fornecimento de energia anaeróbia durante o exercício de alta intensidade e curta duração, sendo estabelecido pela diferença entre a demanda de oxigênio predita em testes submáximos e o consumo acumulado de oxigênio mensurado durante um teste supramáximo, e tem se mostrado sensível para

avaliar os efeitos da suplementação com cafeína (DOHERTY,1998; BELL, 2001) e efedrina (BELL, 2001) sobre o desempenho.

A metformina reduz a glicemia por meio da: (1) inibição da gliconeogênese da glicogenólise, e da glicogênese no fígado, (2) aumento da captação de glicose na musculatura esquelética provocando rápida redução da glicemia plasmática (BAILEY e TURNER, 1996). A ingestão de metformina tem sido associada ao exercício físico, com o objetivo de maximizar os efeitos do fármaco na diminuição dos níveis de glicose (BORST e SNELLEN, 2001; RYNDERS et al., 2011). Chien et al. (2011), relataram que o exercício realizado antes da ingestão de metformina potencializa a sua depuração, ou seja, a capacidade dos rins em retirar, por meio da filtração renal, a metformina da corrente sanguínea, evitando riscos de acidose láctica. A acidose láctica é uma condição causada pelo acúmulo de ácido láctico no corpo e ocorre por um distúrbio no equilíbrio ácido-base. De forma geral, ela pode ocorrer pela redução na oferta de oxigênio na célula, prejudicando a oxidação do NADH em NAD<sup>+</sup> pela mitocôndria, que por sua vez, favorece a conversão do piruvato em ácido láctico, contribuindo para seu acúmulo na circulação (ROCHA, 2009). O uso de alguns fármacos, como metformina, também podem contribuir para acidose láctica, se o indivíduo apresentar complicações renais, dificultando a taxa de excreção desta substância e assim, provocando acidemia. O estudo de Chien et. al. (2011), mostrou que o exercício pode representar uma abordagem potencial para diminuir este efeito colateral da metformina.

Além dos mecanismos de ação da metformina já citados, a proteína quinase ativada por AMP (AMPK) também é um possível alvo da ação da metformina (MUSI et al., 2002; ZOU et al., 2004). Esta enzima é estimulada pelo exercício físico e é ativada pelo aumento da razão AMP/ATP (HARDIE et al., 2003). Acredita-se que por meio da ativação da AMPK pela metformina ocorrem a translocação do GLUT4 do sarcoplasma para membrana da célula muscular (JÚNIOR et al., 2007), possibilitando a captação de glicose pelo músculo esquelético.

Desse modo, este artigo apresenta uma revisão sistemática, tendo como objetivo, investigar os efeitos da suplementação de carboidrato sobre a CAN, e investigar a associação da ingestão de metformina com o exercício.

## **MÉTODOS**

Foi realizada uma revisão sistemática sobre carboidrato, capacidade anaeróbia e metformina por meio de artigos indexados no PubMed. Foram utilizadas as palavras-chave: “carbohydrate and anaerobic capacity”, “carbohydrate and maximal accumulated oxygen deficit”, “carbohydrate and anaerobic exercise” e “metformin and exercise”. Quanto aos critérios adotados para a inclusão neste estudo foram utilizados artigos em inglês, com tema adequado ao proposto neste trabalho, com a amostra composta por seres humanos do sexo masculino para as pesquisas relacionadas ao carboidrato, enquanto para as pesquisas relacionadas à metformina não foram realizadas seleções quanto à amostra. Os artigos que não obedeceram a esses critérios, não foram selecionados.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Nas buscas realizadas, foram encontrados 135 artigos considerando as palavras-chave “carbohydrate and anaerobic capacity”, 2 estudos com “carbohydrate and maximal accumulated oxygen deficit”, 366 pesquisas obtidas com as palavras-chave “carbohydrate and anaerobic exercise” e 639 estudos com as palavras-chave “metformin and exercise”. No entanto, ao analisar os títulos, resumos e após a leitura dos artigos, apenas 8 estudos relacionados ao carboidrato e capacidade anaeróbia adequaram-se aos critérios adotados para este estudo. Enquanto que 6 pesquisas sobre metformina e exercício foram adequadas para a presente revisão. Para melhor ilustração, a tabela 1 apresenta uma síntese dos resultados encontrados sobre carboidrato e capacidade anaeróbia.



**Tabela 1: Representação dos estudos que analisaram a ingestão de carboidrato como recurso ergogênico para o desempenho anaeróbio.**

AUTOR (ANO)	ADMINISTRAÇÃO DE CHO	TIPO DE TESTE	EFEITO SIGNIFICATIVO
Hargreaves et. al., (1997)	Dietas (1 dia): 80% CHO vs 25% CHO	75s- all out MAOD	Sem efeito
Haff et. al., (2001)	Dieta (3 dias): 55% CHO, 25% gordura e 20% proteína Suplementação: Imediatamente antes do teste: 1g/kg e Durante o teste: 0,51g/kg	Dinamômetro isocinético: extensão e flexão de perna 120s <sup>-1</sup> e 180s <sup>-1</sup>	Aumentou o Trabalho total (7%) e P <sub>média</sub> (8,3%)
McMurray et. al., (1991)	Dietas: Alto CHO (75% CHO, 15% gordura e 10% proteína) vs Normal (50% CHO, 30% gordura e 20% proteína)	Teste de Wingate	Não houve alteração de desempenho
Langfort et. al., (1997)	Dieta (3 dias): Mista (50% CHO, 30% gordura, 20% proteína) vs Baixo CHO (5% CHO, 50% gordura, 45% proteína) Bebida: 7% de CHO	Teste de Wingate	A dieta com baixo teor de CHO diminuiu em 8,2% a P <sub>média</sub>
Ball et. al., (1995)	(Ingestão durante os minutos 10, 20, 30 e 40 do teste contra-relógio de 50 min)	Teste de Wingate	Melhorou a P <sub>pico</sub> , P <sub>média</sub> e P <sub>mínima</sub>
Kreider et. al., (1995)	Bebida: 4g/kg de CHO Dieta + Suplementação	Teste de Wingate	Maior consumo total de energia e Menor fadiga psicológica
Lee et al., (2011)	1h antes: 5g gordura/ 15g CHO/ 12g proteína 30min antes: bebida 1,5g/kg glicose	Teste de Wingate	Aumentou a P <sub>média</sub>
Skein et al., (2012)	Dietas: 7 g/kg vs 2 g/kg CHO	Sprints intermitentes (15m de sprints máximos a cada minuto)	Aumento no conteúdo de glicogênio muscular e na distância total percorrida

## Carboidrato como recurso ergogênico para a melhoria da CAN

No intuito de melhorar o desempenho de atletas, alguns treinadores têm utilizado suplementações que possibilitem um maior fornecimento de energia durante o exercício físico. Vários recursos ergogênicos têm sido estudados, apresentando efeitos significativos no desempenho anaeróbio como, a cafeína (ASTORINO et. al., 2011; WOOLF et. al., 2008; GREER et. al., 1998), a creatina (FUKUDA et. al., 2010; HERDA et. al., 2009; HOFFMAN et. al., 2005) e o bicarbonato de sódio (JOHANN et. al., 2006; SIEGLER et. al., 2010; BISHOP e

CLAUDIUS, 2004). No entanto, poucos estudos realizam suplementação de carboidrato (CHO) em exercícios de alta intensidade e curta duração. Geralmente seus efeitos são investigados em exercícios longos (PITSILADIS e MAUGHAN, 1999; WU e WILLIAMS, 2006; BACKHOUSE et. al., 2007), intermitentes (HAFF et. al., 2001; BACKHOUSE et. al., 2007; UTTER et. al., 2007) ou provas de contra-relógio (CARTER et. al., 2004; SHERMAN et. al., 1993; OSTERBERG, et. al., 2008).

Segundo Hargreaves et. al. (1997) com a ingestão de CHO, a disponibilidade de glicogênio muscular e hepático seriam aumentadas, permitindo uma maior degradação do glicogênio muscular, e conseqüentemente uma otimização na produção e utilização da adenosina trifosfato (ATP). Além disso, Haff et. al., (2001) sugerem que este aumento na ingestão ou suplementação de CHO, permitiria o surgimento de elevadas concentrações de glicose no sangue, e dessa forma contribuiria para o aumento da glicólise e glicogenólise. É conhecido que durante o exercício, as células musculares transformam o glicogênio em glicose (glicogenólise) e utilizam como fonte de energia para contração. E por sua vez, a glicólise, que ocorre no sarcoplasma da célula muscular, sendo a via metabólica capaz de produzir ATP sem envolvimento de O<sub>2</sub>, envolve a degradação da glicose ou do glicogênio e produz um ganho de 2 moléculas de ATP e 2 moléculas de ácido pirúvico ou ácido láctico por molécula de glicose. Otimizando essas reações, haveria melhorias no desempenho do exercício de alta intensidade, por usar esta glicose sanguínea e glicogênio muscular como fontes primárias de energia.

Alguns autores buscaram analisar os efeitos da manipulação da dieta sobre o desempenho em exercícios intensos e de curta duração (HAFF et. al., 2001; HARGREAVES et. al., 1997; LANGFORT et. al., 1997; MCMURRAY et. al., 1991). No estudo de Hargreaves et. al., (1997), foi investigado se a disponibilidade de glicogênio muscular antes do exercício teria influência no desempenho durante o exercício de alta intensidade. O autor realizou um teste de 75 segundos de exercício all-out em um cicloergômetro após a depleção de glicogênio muscular com nove ciclistas treinados do sexo masculino. Durante 24 horas após a depleção, eles ingeriram dietas compostas por alto (HCHO: 80% CHO) ou baixo (LCHO: CHO 25%) teor de CHO . Embora houvesse uma tendência ( $p=0,06$ ) para que a quantidade de glicogênio utilizado durante o teste

de 75s fosse mais elevados durante a dieta HCHO em relação à dieta LCHO, não houve diferenças entre os níveis de lactato muscular e sanguíneo, assim como a potência de pico, potência média e MAOD. O autor sugeriu que o aumento do glicogênio muscular antes do exercício não tem efeito direto sobre o desempenho no exercício de alta intensidade.

Por outro lado, Haff et. al. (2001), hipotetizaram que a ingestão de CHO influenciaria no desempenho de um exercício intermitente e isocinético de extensão e flexão da perna. A dieta com 55% de CHO, 25% de gordura e 20% de proteína foi obedecida durante 3 dias antes de cada teste. Após o aquecimento de 5 minutos no cicloergômetro, os sujeitos foram conduzidos até o dinamômetro isocinético. Os indivíduos realizaram 5 repetições de flexão e extensão da perna em  $180^{\circ}\text{s}^{-1}$ . Em seguida, os sujeitos foram solicitados a realizarem 16 séries de 10 repetições a  $120^{\circ}\text{s}^{-1}$  com 3 minutos de intervalo entre cada série. Imediatamente após os 15 minutos de repouso que era dado antes de cada teste, os sujeitos ingeriram 1g/kg de CHO, e durante o exercício, era ingerido 0,51g/kg de CHO após as séries 1, 6 e 11, ou placebo. Os resultados indicaram que o tratamento com CHO melhorou significativamente o trabalho total (CHO:  $41,1 \pm 3,9$  kJ; Placebo:  $38,1 \pm 3,9$  kJ), e a média de trabalho (CHO:  $2,6 \pm 0,2$  kJ; Placebo:  $2,4 \pm 0,2$  kJ). A glicose sanguínea foi significativamente maior nos testes com CHO. Com os dados desta investigação, o autor sugeriu que o uso da suplementação de CHO antes e durante o exercício isocinético de extensão e flexão de perna pode produzir um efeito ergogênico, no entanto neste estudo a CAN não foi mensurada.

De forma semelhante, McMurray et. al., (1991) restringiram a ingestão de calorias (92 kJ/kg FFW/dia) de 12 lutadores durante 7 dias, utilizando uma dieta rica em carboidratos (HC), que consistia de 75% de carboidratos, 15% de gordura e 10% de proteína, ou uma dieta normal (NC) contendo 50% de carboidrato, 30% de gordura e 20% de proteína, para determinar o efeito agudo da deficiência calórica sobre o desempenho do exercício anaeróbio. A capacidade anaeróbia foi mensurada utilizando o teste de Wingate que indicou que o grupo que ingeriu uma dieta normal (NC) teve uma redução significativa nas potências de pico e média (-7% e -6%, respectivamente;  $p < 0,05$ ), enquanto que o grupo que foi submetido a ingerir a dieta rica em CHO não apresentou redução todas as potências mensuradas. Os resultados deste estudo indicaram que mesmo durante uma

restrição calórica, uma dieta rica em carboidratos mantém melhor o desempenho no exercício anaeróbio. Langfort et. al., (1997) também fizeram uma comparação entre dois tipos de dietas por 3 dias (dieta mista: 130 kJ/kg de massa corporal, 50% CHO, 30% gordura, 20% proteína; dieta com baixo teor de CHO: 5% CHO, 50% gordura, 45% proteína) para analisar seus efeitos sobre o desempenho e sobre respostas metabólicas em um exercício anaeróbio. Os resultados apresentaram que a dieta com baixo CHO diminuiu a potência média (dieta mista: 581W; dieta baixo CHO: 533W) e não alterou a potência máxima. Sua principal conclusão foi que uma dieta com baixo CHO é prejudicial a capacidade de trabalho anaeróbio, possivelmente devido à redução dos estoques de glicogênio muscular e a diminuição da taxa de glicólise.

A suplementação de CHO também tem sido utilizada por alguns estudos para analisar suas implicações em um exercício anaeróbio. Com o objetivo de investigar os efeitos de uma bebida com 7% CHO (2mL/kg) na capacidade de realizar o teste de Wingate imediatamente após ter pedalado em alta intensidade durante um teste de contra-relógio de 50 minutos, Ball et. al., (1995) solicitaram que os indivíduos ingerissem a bebida nos minutos 10, 20, 30 e 40 do teste contra-relógio, totalizando uma ingestão de 52,8g de carboidrato. Os resultados apresentaram que apesar da PSE ter sido menor, em comparação com o placebo, o grupo CHO apresentou uma potência de pico maior, assim como melhorias na potência média e potência mínima. A frequência cardíaca e o índice de fadiga não apresentaram diferenças significativas entre os grupos. O autor sugeriu que o desempenho de sprint após um teste contra-relógio de alta intensidade de apenas 50 minutos pode ser melhorado com consumo periódico de CHO, especialmente após uma noite de jejum, quando o glicogênio hepático provavelmente está diminuído. Estes resultados têm implicações para o ciclismo competitivo, onde a capacidade de sprint no final de uma corrida é um importante determinante do sucesso.

Para determinar os efeitos da suplementação de CHO durante um treinamento intenso sobre os padrões alimentares, estado psicológico, e marcadores do desempenho aeróbio e anaeróbio, Kreider et. al., (1995) analisaram dois grupos (CHO e placebo) durante 7 dias, com treinamento intenso. Onde o primeiro grupo ingeriu 4g/kg de CHO dividido em 4 vezes ao dia (1g/kg 4 vezes), enquanto que o segundo grupo ingeriu placebo. Os resultados revelaram

que quando comparado com o placebo, o grupo suplementado com CHO teve um maior consumo total de energia, maior consumo de CHO e em adicional, houve mudança (pré vs pós) no tempo de exaustão, ao ser relatado menor fadiga psicológica após o treinamento intenso. Lee et. al., (2011) realizaram um estudo com adolescentes, no intuito de verificar se a ingestão de CHO pré-exercício melhoraria o desempenho anaeróbio. Trinta minutos antes dos sujeitos chegarem ao laboratório, eles recebiam um pequeno almoço ou café da manhã que continha 5g de gordura, 15g de CHO e 12g de proteína (um total de 150 calorias por porção). Após a chegada ao laboratório, os sujeitos permaneciam em repouso por 20 minutos, onde neste período ocorreram a coleta sanguínea e a ingestão de uma bebida que continha 1,5g/kg de glicose ou placebo. Após os 20 minutos de repouso os sujeitos realizaram um aquecimento e foram submetidos a mais uma coleta sanguínea. O teste experimental foi realizado 30 minutos após a ingestão da bebida. Foi verificado que no grupo CHO houve maior valor da potência média, como também maior concentração de glicose sanguínea e maior concentração de insulina. Apesar de não ter apresentado diferença estatística, é importante mencionar que a potência de pico no grupo CHO apresentou um alto valor de tamanho de efeito ( $f > 0,40$ ), sugerindo que a suplementação de CHO possivelmente melhora o desempenho tanto da potência média como da potência de pico. O autor concluiu que a melhora no desempenho foi aparente com o consumo de CHO trinta minutos antes do exercício. A frequência cardíaca, as respostas de lactato, de percepção e catecolaminas para este tipo de exercício não foi afectada pelo uso de uma bebida pré-exercício CHO.

Skein et. al. (2012) objetivaram determinar os efeitos da ingestão de CHO e do conteúdo de glicogênio muscular, no desempenho de sprints intermitentes. Dez indivíduos realizaram um teste para depleção do glicogênio muscular e após esta sessão, eles ingeriram uma dieta com alto (HCHO 7 g/kg) ou baixo teor de CHO (LCHO 2 g/kg) por uma noite. No entanto os participantes não tinham conhecimento que o CHO estava sendo manipulado. No dia 2, os sujeitos realizaram um exercício intermitente de Sprint, que incluía 15m de sprints máximos a cada minuto, com um intervalo de 1min a cada 10 min de exercício, totalizando 60 minutos de exercício. Antes e após o teste intermitente, foram obtidas amostras do tecido muscular, por meio de uma biópsia. O conteúdo de glicogênio muscular antes do exercício intermitente foi significativamente maior na

condição HCHO quando comparado à condição LCHO. Com o exercício, ambas as condições apresentaram diminuição do glicogênio muscular, no entanto, uma maior quantidade de glicogênio muscular pós-exercício ainda era significativamente maior na condição HCHO. A distância total percorrida durante o esforço foi significativamente maior durante a condição de HCHO em comparação com LCHO ( $p = 0,02$ ). Portanto, o autor apoiou a importância da pré-ingestão de CHO para atletas, e que a intensidade de sprints intermitentes podem ser regulados com base no conteúdo de glicogênio no músculo esquelético.

A suplementação de carboidrato antes do exercício aumenta a utilização da glicose como fonte de energia, porque há um aumento na disponibilidade de glicose na corrente sanguínea durante o exercício por meio dessa suplementação prévia (ROTSTEIN et. al., 2007; SAPATA et. al., 2006). Isso iria diminuir a taxa de remoção de lactato e, conseqüentemente, aumentar as concentrações de lactato no sangue (ROTSTEIN et. al., 2007). No entanto, ainda se questiona muito se a suplementação de carboidrato antes do exercício realmente é eficiente para melhorar o desempenho. Alguns estudos relatam que haveria diminuição no desempenho tanto em exercício de endurance (HARGREAVES et. al., 1985) quanto em um exercício intenso (FOSTER et. al., 1979) com a suplementação de carboidrato sendo realizada antes do exercício, por ocasionar elevação rápida da glicemia do sangue, o que acarretaria hipoglicemia de rebote, por induzir aumento da liberação de insulina pelo pâncreas.

Sapata et. al.,(2006), suplementou os sujeitos com uma bebida composta por carboidrato simples (18g de carboidrato – 250ml de Gatorade), carboidrato complexo (1g/kg de maltodextrina) ou placebo, 30 minutos antes do exercício. Apesar de não observarem alterações no desempenho, os autores verificaram que após o consumo da bebida à base de glicose, não houve modificações na glicemia até o início do exercício. Possivelmente, esta inalteração pode ter sido ocasionada pela hipoglicemia de rebote, ou seja, o consumo da bebida à base de glicose aumentaria as concentrações de glicose na corrente sanguínea 5 à 10 minutos após a ingestão. Essa elevação na glicemia levaria ao aumento da liberação de insulina pelo pâncreas que, devido ao rápido transporte da glicose plasmática para as células através dos transportadores de glicose (GLUT-4), ocasionaria queda na glicose plasmática, retornando a valores glicêmicos basais próximos ao início do exercício. Já quando os indivíduos foram suplementados

com maltodextrina, houve elevação da curva glicêmica. Os autores explicam que a maltodextrina, por ser classificada como um carboidrato de alto índice glicêmico e também complexo faz com que a glicose passe para a circulação sanguínea de forma mais lenta. Sendo assim, a elevação da curva glicêmica se mantém por mais tempo.

Entretanto, Lee et. al. (2005), observaram melhorias no desempenho de adolescentes após 30 minutos da ingestão de 1,5g/kg de carboidrato. Enquanto que Rotstein et. al. (2007), não observaram efeitos significativos na concentração de lactato ou no desempenho em corredores treinados, após a suplementação de 41g de carboidrato também realizada trinta minutos antes de um teste incremental. Os autores sugeriram que o tempo estipulado para a suplementação pode ter sido insuficiente para que os efeitos da suplementação de carboidrato fossem plenos. Talvez a quantidade de carboidrato ingerido também não tenha sido suficiente para que fossem observados efeitos significativos, pois em comparação com o estudo de Lee et. al. (2005) que utilizou 1,5g/kg de carboidrato e o estudo de Kreider et. al., (1995) que suplementou os indivíduos com 4g/kg de CHO, e ambos observaram efeitos significativos no desempenho, a quantidade de CHO utilizada por Rotstein et. al., (2007) foi muito inferior.

## **Metformina e Exercício**

A metformina é uma das drogas antidiabéticas orais mais prescritas no mundo (JÚNIOR et al., 2007). Os mecanismos de ação da metformina são: (1) inibição da gliconeogênese, glicogenólise e glicogênese no fígado, (2) aumenta a captação de glicose na musculatura esquelética provocando rápida redução da glicemia plasmática (BAILEY e TURNER, 1996). O mecanismo pelo qual a metformina aumenta a captação de glicose na musculatura esquelética está relacionado à translocação do transportador de glicose GLUT4 do sarcoplasma para a membrana da célula muscular (JÚNIOR et al., 2007). A combinação do exercício com o tratamento do diabetes por meio de sulfonilureias (tipo de anti-diabético oral que tem função de aumentar a secreção pancreática de insulina) tem provocado diminuição severa da concentração de glicose em ratos diabéticos quando comparado só com o tratamento com o fármaco (GOODYEAR et al.,

1992). No entanto, devido ao mecanismo das sulfonilureias de aumentar a secreção de insulina, o exercício associado ao tratamento com estes hipoglicemiantes orais tem aumentado os eventos de hipoglicemia (KEMMER et al., 1987). Contudo, o exercício físico tem um maior valor potencial, quando associado ao tratamento com anti-hiperglicemiantes orais (HUMMEL et al., 1966) como biguanidas e inibidores de alfa-glicosidases, como metformina e arcabose respectivamente, que apresentam pouco risco de hipoglicemia.

Tang e Reed (2001) hipotetizaram que um exercício moderado poderia aumentar os efeitos da diminuição da glicose de duas drogas anti-hiperglicemiantes orais: metformina e arcabose, em animais com diabetes tipo 2. Para isso 48 ratos com 8 semanas de idade foram divididos em grupo controle (n=24) e grupo exercício (n=24). Em seguida cada grupo foi subdividido em placebo (n=8), metformina (150 mg/kg/d) (n=8) e arcabose (40 mg/kg/d) (n=8) e foram submetidos à ingestão das drogas e placebo durante quatro semanas. O exercício consistiu de 5 minutos de natação inicial, com incrementos de 5 minutos por dia até atingir 1 hora de exercício, que foi mantida nas semanas subsequentes (2 últimas semanas). O tratamento com metformina e arcabose apresentou diminuição na concentração de glicose no plasma e quando associado ao exercício, houve ainda maior redução dessa concentração, comparado aos seus respectivos controles. No entanto, o efeito da redução da glicose do exercício foi menor em combinação com o tratamento da arcabose que com o tratamento com metformina, provavelmente devido aos seus mecanismos de ação, onde a metformina apresenta uma diminuição na produção hepática de glicose, enquanto que a arcabose, não evita a produção, mas retarda a absorção de dissacarídeos no intestino. Além disso, o treinamento físico manteve as concentrações de insulina e aumentou o armazenamento de glicogênio do tecido muscular. O autor sugeriu que o exercício tem potencial de aumentar a eficácia das drogas anti-hiperglicemiantes orais, sem apresentar riscos de hipoglicemia.

Ainda associando a ingestão de metformina ao exercício físico, os efeitos do exercício na disposição e na farmacocinética da metformina foram investigados por Chien et. al. (2011). Após os ratos terem sido induzidos ao diabetes mellitus tipo 2, foi realizado o exercício, que consistiu de 45 minutos



diários de natação por 4 semanas (5 dias por semana), sendo que nas duas últimas semanas eram incrementadas cargas de 1% e 2% do peso corporal nas caldas dos animais. Os ratos foram separados em 2 grupos: o grupo que nadou e recebeu metformina (n=6) e grupo que não nadou e recebeu metformina (n=6). Após realizar o exercício, os grupos receberam 450 mg/kg de metformina. Por meio das coletas de amostras sanguíneas foi verificado que tanto os níveis de glicose quanto os níveis de insulina foram menores no grupo que nadou. Em adição, a concentração máxima de metformina foi significativamente mais baixa no grupo que se exercitou em comparação com o grupo que só recebeu o fármaco. Observou-se também que a depuração plasmática da metformina no grupo que foi submetido à natação foi significativamente maior em relação ao grupo sedentário. O aumento na depuração da metformina após o exercício pode estar relacionado aos transportadores de cátions orgânicos (OCT). Foi demonstrado em um estudo anterior que ocorre 7 vezes regulação para cima da expressão do mRNA de OCT2 após o treinamento de 6 meses (ZEIBIG et al., 2005). Como a metformina é transportada por pelo menos dois tipos de OCT, OCT1 e OCT2, e estes transportadores desempenham um papel dominante para a farmacocinética da metformina (KIMURA et al., 2005), foi sugerido pelo autor que o treinamento de natação aumentou a depuração de metformina, possivelmente por meio da ativação da expressão de OCT2. Sabe-se que uma quantidade inferior de concentração do fármaco pode reduzir o efeito colateral de metformina (acidose láctica). Logo, o exercício também pode servir de forma potencial para diminuir os efeitos adversos da metformina.

Com o objetivo de verificar as respostas fisiológicas ao exercício agudo em ratos Wistar obesos, tratados com metformina, de Araujo e colaboradores em 2007, randomizaram 20 ratos em quatro grupos: 1) obeso controle, 2) obeso metformina, 3) obeso controle exercitado e 4) obeso metformina exercitado. Os ratos tratados com metformina receberam durante 15 dias 1,4mg/ml da droga diluída em água. As respostas geradas por uma sessão aguda de exercício em ratos obesos foram semelhantes às ações medicamentosas do grupo metformina e a ação do exercício (30 min de natação sem carga adicional) associado ao tratamento com metformina potencializou os efeitos de síntese e captação de glicose pela musculatura esquelética após o exercício. A partir dessas

constatações, fica evidente a facilitação da metformina e no processo de síntese e utilização de glicose pelo músculo esquelético e a potencialização do exercício neste último efeito.

Além dos mecanismos de ação da metformina já citados, a proteína quinase ativada por AMP (AMPK) também é um possível alvo da ação da metformina (MUSI et al., 2002; ZOU et al., 2004). Esta enzima é estimulada pelo exercício físico e é ativada pelo aumento da razão AMP/ATP (HARDIE et al., 2003). A metformina não é considerada uma droga hipoglicemiante e sim anti-hiperglicemiante, por não aumentar a secreção de insulina como as sulfonilureias e metiglinas, e mesmo em doses consideráveis não apresenta risco de hipoglicemia (TANG e REED, 2001). Este fármaco parece alterar o metabolismo lipídico, no entanto ainda não está esclarecido por meio que qual mecanismo ocorre diminuição de peso corporal. Após submeter um grupo de adolescentes obesos a 6 meses de exercício (entre 30 a 40 minutos de exercícios aeróbios e de resistência) e dieta (meta de déficit calórico de 250 - 500cal.d<sup>-1</sup>) e outro grupo com o mesmo tempo de exercício e dieta com adição da ingestão de metformina (250mg duas vezes no dia, com incrementos de 500mg duas vezes no dia e 1000mg duas vezes no dia), Rynders et. al. (2011), observaram que a adição de metformina não mostrou benefício adicional em comparação com a intervenção do estilo de vida sozinho.

Apesar de o grupo metformina ter apresentado uma maior perda de peso, os valores não foram significativos, no entanto, as melhorias foram modestas em relação ao grupo que não ingeriu a droga. Contudo, a perda de peso pode ter ocorrido por influência dos três fatores envolvidos (dieta, exercício e metformina), e principalmente por influência do exercício aeróbio, que é um meio eficaz para estimular a oxidação das gorduras durante e após o exercício. Houve um breve aumento de 12,5% no VO<sub>2</sub>max após 6 meses de exercício sem ingestão do fármaco, no entanto, após a ingestão de metformina, não houve alteração no consumo máximo de oxigênio. O autor relata que esse comportamento do VO<sub>2</sub>máx já era esperado no grupo metformina, pois foi relatado em um estudo anterior que a metformina tem um efeito inibidor sobre o complexo I da cadeia de transporte de elétrons (BATANDIER et al., 2006; JOHNSON et al., 2008),

sugerindo que capacidade máxima de um exercício aeróbio pode ser menor quando o fármaco é administrado concomitantemente com o exercício aeróbio. Em conclusão, o autor afirma que 6 meses de mudança no estilo de vida (exercício e dieta) resulta em mudanças favoráveis na composição corporal e condicionamento aeróbio em adolescentes com obesidade simples e que a adição de metformina ao exercício e dieta não fornece benefícios adicionais, para o tipo de amostra desse estudo.

Em outro estudo, com o objetivo de avaliar os efeitos do tratamento crônico com metformina combinado com o treinamento físico sobre a composição corporal, concentração de insulina, transporte de glicose para o músculo esquelético e no conteúdo de glicogênio muscular, Borst e Snellen (2001) dividiram 48 ratos machos Sprague-Dawley em 6 grupos: sedentário - controle, sedentário - metformina, sedentário - pair-fed, exercício - controle, exercício - metformina e exercício - pair-fed. O grupo tratado com metformina recebeu 320mg/kg/dia por 35 dias e os animais que se exercitaram realizaram corrida em esteira de 20 min a 20 m/min, cinco dias por semana. Tanto na condição metformina, como treinamento e pair-fed, foram apresentados diminuição de 9% na ingestão alimentar, apresentando também redução do peso corporal (principalmente quando combinados metformina e exercício) e concentração de insulina. O grupo metformina e o grupo exercício apresentaram redução na gordura intra-abdominal. Segundo os autores, a perda de peso após a ingestão de metformina, pode ser explicada pela diminuição da ingestão de alimentos, no entanto a redução na gordura intra-abdominal no grupo metformina não pode ser justificada da mesma forma. Baseando-se no aumento da concentração muscular de interleucina 6 (*in vitro*) (HUNDAL et. al., 1992), que está associada à diminuição do apetite, os autores sugerem que é possível que a metformina atue diretamente sobre o músculo, mas age sobre o tecido adiposo indiretamente, por meio de um mediador sistêmico.

No mesmo estudo, a metformina também possibilitou um aumento no transporte de glicose para os músculos sóleo, extensor ulnar do carpo e músculos epitrocleares. Enquanto que o treinamento aumentou esse transporte apenas no músculo extensor ulnar no carpo, e quando comparado ao realizado pela

metformina, esse transporte de glicose foi ainda menor. Os autores sugerem que a distribuição do tipo de fibra pode favorecer o aumento no transporte de glicose apenas no músculo extensor ulnar do carpo pelo treinamento. Enquanto que o sóleo é predominantemente um músculo oxidativo com alto teor de fibras tipo 1, tanto os músculos epitrocleares quanto o extensor ulnar do carpo são músculos oxidativos e/ou glicolíticos com alto teor de fibras tipo IIb, e possivelmente o tipo de treinamento tenha favorecido o transporte de glicose nesse tipo de fibra. O treinamento ainda aumentou o conteúdo de glicogênio muscular do gastrocnêmio em 100% (P 0,001). Enquanto que os grupos metformina e pair-fed não mostraram alteração no glicogênio muscular. Os autores concluíram que a metformina e exercício pode aumentar a sensibilidade à insulina por mecanismos diferentes, com o treinamento causando aumento do transporte de glicose apenas em alguns músculos e também causando aumento do armazenamento de glicogênio muscular.

Talvez a diminuição do peso corporal e outras ações da metformina ocorram devido à ativação da AMPK. Foi demonstrado que esta enzima, além de inibir a síntese de ácidos graxos, também inativa a glicerol-fosfato-acil transferase (GPAT) e a HMGCoA redutase, enzimas-chaves na síntese de triglicerídeos e de colesterol, respectivamente (ZHOU et al., 2001). O mesmo estudo apresentou que a AMPK atua de forma crônica na diminuição da expressão de genes lipogênicos e neoglicogênicos (ZHOU et al., 2001). Acredita-se que a AMPK atua no fígado diminuindo a síntese de lipídios e estimulando a quebra de gordura, além de bloquear a produção hepática de glicose (ZHOU et al., 2001; ZANG et al., 2004), como já foi relatado como possível mecanismo da metformina. Talvez por ativar esta enzima, a metformina apresente também efeitos de diminuição no peso corporal. Rouru e colaboradores em 1992 e 1993 observaram que o tratamento crônico com metformina, reduziu a ingestão de alimentos, mas não afetou a atividade termogênica do tecido adiposo em ratos obesos. Dessa forma, o peso reduzido após o tratamento crônico com metformina parece ter sido determinado pela redução da ingestão de alimentos. No entanto o mecanismo para esta redução na ingestão alimentar precisa ser esclarecida.

Pensando em dar continuidade ao estudo, o mesmo autor em 1994 afirmou que há uma diminuição da ingestão alimentar após o uso da metformina, provocando a diminuição do peso corporal, e que esta redução alimentar pode ser causada por efeitos de propriedades anorexígenas. Novamente a enzima AMPK também atua nas funções hipotalâmicas, modulando os eventos relacionados com a fome e a saciedade (RUDERMAN et al., 2003). A ingestão de alimentos é controlada por complexos mecanismos nos quais vários neurotransmissores hipotalâmicos, e particularmente o neurotransmissor Y tem um importante papel. O neuropeptídeo Y é uma das substâncias que fazem a comunicação entre os neurônios e pode ser considerado o principal estimulante da fome. Dessa forma foi realizado este estudo para observar de que forma o tratamento crônico com metformina afetaria o conteúdo e a expressão do neuropeptídeo Y (ROURU et al., 1994).

Ao final do estudo, além de observar significativa diminuição nos níveis de glicose e insulina nos ratos tratados com metformina, foi verificado que 300mg/kg de metformina por via subcutânea, reduziu de forma significativa a ingestão de alimentos em ratos obesos 1h e 2h após o consumo, enquanto que 150 mg/kg não teve efeito significativo. Já em ratos magros a ingestão de metformina não afetou significativamente a ingestão de alimentos. Uma única dose de metformina intragástrica (300mg/kg) de forma aguda não alterou o consumo de alimentos tanto nos ratos obesos ou magros. Já no grupo que foi tratado cronicamente por 12 dias os ratos comeram significativamente menos do que os ratos do grupo de controle. A metformina reduziu a ingestão de alimentos no primeiro dia de tratamento e o efeito foi significativo, no final da experiência. O conteúdo de neuropeptídeo Y foi maior no núcleo paraventricular dos ratos tratados com metformina do que nos animais do grupo controle. No núcleo arqueado do grupo metformina, o conteúdo do neuropeptídeo Y também foi maior do que nos animais do grupo controle, mas essas diferenças não foram significativas. Adicionalmente, não houve diferença significativa na expressão de mRNA preproneuropeptide Y no núcleo arqueado entre os ratos tratados com metformina e controle.

Dessa forma, a ingestão reduzida de alimentos nos animais tratados com metformina sugere que outros mecanismos, talvez periféricos, são capazes de

neutralizar os neuropeptídeos Y gerados, contribuindo para o efeito anorético da metformina, já que a droga não apresentou efeito na diminuição do conteúdo dos neuropeptídeos Y e sim o contrário. O autor concluiu que a terapia com metformina aumentou o teor de neuropeptídeo Y no núcleo paraventricular e núcleo arqueado sem afetar a expressão do mRNA preproneuropeptide Y no núcleo arqueado em ratos Zucker geneticamente obesos. Assim, baseado nos dados obtidos neste estudo, o efeito anorético da metformina não pode ser explicado por mudanças no conteúdo ou expressão do neuropeptídeo Y no hipotálamo. Necessitando de outros estudos mais aprofundados que busquem essa resposta.

## **CONCLUSÃO**

Foi concluído que a suplementação em altas concentrações de CHO, como também a administração de dietas com alto teor de CHO apresentaram contribuições para a melhoria da CAN e conseqüentemente do desempenho anaeróbio. Estes efeitos foram encontrados tanto em indivíduos fisicamente ativos, quanto em atletas do ciclismo e lutadores. Apesar de existirem muitos métodos para mensurar a CAN, o MAOD é considerado o padrão ouro para sua estimativa, sobretudo por ser um método não-invasivo e adequado. No entanto, os efeitos da suplementação de CHO no desempenho anaeróbio mensurado pelo MAOD têm sido pouco estudados. Portanto, torna-se necessário que outros estudos sejam realizados com o objetivo de mensurar a CAN após a suplementação de CHO, utilizando o MAOD para sua estimativa.

Concluimos também que a metformina tem sido usada em combinação com o exercício físico para potencializar a diminuição dos níveis de glicose, e evitar complicações provenientes do diabetes mellitus tipo 2. Tem-se verificado que além de diminuir os níveis de insulina e glicose, a metformina tem ação na diminuição do consumo alimentar, causando diminuição do peso corporal. Há estudos que afirmam que esta droga atua no metabolismo dos lipídios por meio da ativação da AMPK.

## REFERÊNCIAS

BELL, Douglas G.; MCLELLAN, Tom M.; SABISTON, Cathi M. Effect of ingesting caffeine and ephedrine on 10-km run performance. *Medicine & Science in Sports & Exercise*. 2001.

EDJE, Johann; BISHOP, David; GOODMAN, Carmel. Effects of chronic NaHCO<sub>3</sub> ingestion during interval training on changes to muscle buffer capacity, metabolism, and short-term endurance performance. **Journal of Applied Physiology** – 101: 918-925.2006.

BACKHOUSE, S.H.; ALI, A.; BIDDLE, S. J. H.; WILLIAMS, C. Carbohydrate ingestion during prolonged high-intensity intermittent exercise: impact on affect and perceived exertion. **Scandinavian Journal of Medicine and Science in Sports** – 17: 605-610. 2007.

BALL TC, HEADLEY SA, VANDERBURGH PM, SMITH JC. Periodic carbohydrate replacement during 50 min of high-intensity cycling improves subsequent sprint performance. **Int J Sport Nutr.** - 5(2):151-8. 1995.

BANGSBO, By J.; GRAHAM, T.E.; KIENS, B.; SALTIN, B. Elevated muscle glycogen and anaerobic energy production during exhaustive exercise in man. **Journal of Physiology** – 451, 205-227. 1992.

BERTUZZI, R. C. M. ; FRANCHINI, E.; UGRINOWITSCH , C.; KOKUBUN, E.; LIMA-SILVA, A.E.; PIRES, F.O.; NAKAMURA, F.Y.; KISS, M.A.P.D.M. Predicting MAOD using only a supramaximal exhaustive test. **International Journal of Sports and Medicine** - 31:477-481. 2010.

BERTUZZI, R. C. M.; LIMA-SILVA, A.E.; PIRES, F.O.; KISS, M.A.P.D.M. Déficit máximo acumulado de oxigênio: Uma breve revisão histórica e metodológica. **Revista da Educação Física/UEM** – 19(1): 131-144. 2007.

BISHOP, David; CLAUDIUS, Brett. Effects of induced metabolic alkalosis on prolonged intermittent-sprint performance. **Medicine and Science in Sports and Exercise**. 2005.

CARTER, James M.; JEUKENDRUP, Asker E.; JONES, David A. The effect of carbohydrate mouth rinse on 1-h cycle time trial performance. **Physical Fitness and Performance**. 2004.

DOHERTY, Michael. The effects of caffeine on the maximal accumulated oxygen deficit and short-term running performance. **International Journal of Sports Nutrition** – 8, 95-104. 1998.

FOSTER C, COSTILL DL, FINK WJ. Effects of preexercise feedings on endurance performance. **Medicine Science of Sports and Exercise**-11:1-5. 1979.

FUKUDA, DH; SMITH, AE; KENDALL, KL; DWYER, TR; KERKSICK, CM; BECK, TW, CRAMER, JT; STOUT, JR. The effects of creatine loading and gender on anaerobic running capacity. **Journal of Strength and Conditioning Research** – 24(7): 1826-33. 2010.

GREEN, S.; DAWSON, B. Measurement of anaerobic capacities in humans. Definitions, limitations and unsolved problems. **Sports Medicine** - 15:312-327. 1993.

HAFF, G.G.; SCHROEDER, A. J.; KUPHAL, Koch K. E.; COMEAU, M.J.; POTTEIGER, J.A. The effects of supplemental carbohydrate ingestion on intermitente isokinetic leg exercise. **Journal of Sports Medicine and Physical Fitness** – 41: 216-22. 2001.

HARGREAVES M, COSTILL DL, KATZ A, FINK WJ. Effects of fructose ingestion on muscle glycogen usage during exercise. **Medicine Science of Sports and Exercise** -17:360-3. 1985.



HARGREAVES, Mark; FINN, J. Paul; WITHERS, Robert T.; HALBERT, Julie A.; SCROOP, Garry C. MACKAY, Malcolm; SNOW, Rodney J.; CAREY, Mitchael F. Effect of muscle glycogen availability on maximal exercise performance. **European Journal Applied Physiology** – 75: 188-192. 1997.

HERDA, TJ; BECK, TW; RYAN, ED; SMITH, AE; WALTER, AA; HARTMAN, MJ; STOUT, JR; CRAMER, JT. Effects of creatine monohydrate and polyethylene glycosylated creatine supplementation on muscular strength, endurance, and power output. **Journal of Strength and Conditioning Research** – 23(3):818-26. 2009.

HILL, D.W., DAVEY, K.M., and STEVENS, E.C. Maximal accumulated O<sub>2</sub> deficit in running and cycling. **Canadian Journal of Applied Physiology** - 27(5): 463-478. 2002.

HOFFMAN, Jay R.; STOUT, Jeffrey R.; FALVO, Michael J.; KANG, Jie; RATAMESS, Nicholas A. Effect of low-dose, short-duration creatine supplementation on anaerobic exercise performance. **Journal of Strength and Conditioning Research** – 19(2), 260-264. 2005.

KREIDER RB, Hill D, Horton G, Downes M, Smith S, Anders B. Effects of carbohydrate supplementation during intense training on dietary patterns, psychological status, and performance. **Int J Sport Nutr.**- 5(2):125-35. 1995.

LANGFORT, J.; ZARZECZNY, W.; PILIS, W.; NAZAR, K.; KACIUBA-USCITKO, H. The effect of a low-carbohydrate diet on performance, hormonal and metabolic response to a 30-s bout of supramaximal exercise. **European Journal of Applied Physiology** – 76: 128-133. 1997.

LEE JD, STERRETT LE, GUTH LM, KONOPKA AR, MAHON AD. The effect of pre-exercise carbohydrate supplementation on anaerobic exercise performance in adolescent males. **Pediatr Exerc Science** - 23(3):344-54. 2011.

MAUGHAN, R.J.; PITSILADIS, Y.P. The effects of exercise and diet manipulation on the capacity to perform prolonged exercise in heat and in the cold in trained humans. **Journal of Physiology** – 517(3): 919-130. 1999.

MCMURRAY RG, PROCTOR CR, WILSON WL. Effect of caloric deficit and dietary manipulation on aerobic and anaerobic exercise. **International Journal of Sports and Medicine** - 12(2):167-72. 1991.

MEDBO, Jon Ingulf; MOHN, Arne-Christian; TABATA, Izumi; BAHR, Roald; VAAGE, Odd; SEJERSTED, Ole M. Anaerobic capacity determined by maximal accumulated O<sub>2</sub> deficit. **Journal of Applied Physiology** - 64(1): 50-60. 1988.

MITCHELL, J.B.; COSTILL, D.L.; HOUMAND, J.A.; FINK, W.J.; PASCOE, D.D.; PEARSON, D.R. Influence of carbohydrate dosage on exercise performance and glycogen use. **Journal of Applied Physiology** – 67: 1843. 1989.

MORTON, R. Hugh; BILLAT, Veronique. Maximal endurance time at VO<sub>2max</sub>. **Medicine and Science in Sports and Exercise** – 32(8): 1496–1504. 2000.

OSTERBERG, Kristin L.; ZACHWIEJA, Jeffrey J. SMITH, Johneric W. Carbohydrate and carbohydrate+protein for cycling time-trial performance. **Journal of Sports Sciences** – 26(3): 227-233. 2008.

POWERS, S.K.; LAWLER, J.; DODD, S.; TULLEY, R.; LANDRY, G.; WHEELER, K.; Fluid replacement drinks during high intensity exercise: effects on minimizing exercise-induced disturbances in homeostasis. **European Journal Applied Physiology** – 60:54. 1990.

RAMSBOTTOM, R; NEVILL, NE; NEVILL, AM; HAZELDINE, R. Accumulated oxygen deficit and shuttle run performance in physically active men and women. **Journal of Sports Sciences** – 15, 207-214. 1997.

ROTSTEIN A.; DOTAN R.; ZIGEL L.; GREENBERG T.; BENYAMINI Y.; FALK B. The effect of pre-test carbohydrate ingestion on the anaerobic threshold, as

determined by the lactate-minimum test. **Appl Physiol Nutr Metab.** - 32(6):1058-64. 2007.

SHERMAN, William M.; DOYLE, J. Andrew; LAMB, David R.; STRAUSS, Richard H. Dietary carbohydrate, muscle glycogen, and exercise performance during 7 d of training. 1993.

SPRIET, L. L.; Anaerobic metabolism in human skeletal muscle during short-term, intense activity. **Canadian Journal of Physiology Pharmacology** - 70(1):157-65. 1992.

SIEGLER, JC; MCNAUGHTON, LR; MIDGLEY, AW; KEATLEY, S.; HILLMAN, A. Metabolic alkalosis, recovery and sprint performance. **International Journal of Sports and Medicine** – 31: 797-802. 2010.

UTTER, Alan C.; KANG, Jie; NIEMAN, David C.; DUMKE, Charles L.; MCANULTY, Steven R. Carbohydrate attenuates perceived exertion during intermittent exercise and recovery. **Medicine and Science in Sports and Exercise** – 39(5): 880–88. 2007.

WU, Ching-Lin; WILLIAMS, Clyde. A Low glycemic index meal before exercise improves endurance running capacity in men. **International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism** – 16, 510-527. 2006.

**2º artigo: artigo de resultados**

**Metformin associated with carbohydrate supplementation improves the anaerobic capacity?**

Revista que será submetido: International Journal of Sports Medicine.

## **ABSTRACT**

The purpose of this study was to verify the effects of metformin intake with or without CHO supplementation on Maximal accumulated oxygen deficit (MAOD). Twenty men with  $25 \pm 5.6$  years old,  $172 \pm 8.3$  cm,  $71.3 \pm 8.7$  kg,  $11.2 \% \pm 3.8$  body fat and  $30.4 \pm 5.8$  mL/kg/min maximal oxygen uptake ( $VO_{2max}$ ), performed the following tests: 1) incremental test in a cycle ergometer 2) 6 submaximal constant workload tests (40, 50, 60, 70, 80 and 90% $VO_{2max}$ ) 3) 4 supramaximal tests at 110%  $VO_{2max}$ . MAOD was calculated by the difference between predicted oxygen demand and accumulated oxygen in a supramaximal test. Metformin (500mg) and Carbohydrate (2g/kg) was ingested 1h and 30min. before the supramaximal test, respectively. After checked the data normality (Shapiro-Wilk test), ANOVA one-way was used, following by the Newman-Keuls post-hoc (Statistica7.0). The significance level was set at  $p \leq 0.05$ . There were no differences in MAOD between placebo ( $2.7 \pm 0.9$  L), metformin ( $2.8 \pm 1$  L), metformin and carbohydrate ( $2.7 \pm 0.8$  L) and control ( $2.8 \pm 0.9$  L). Metformin associated with Carbohydrate supplementation no improves anaerobic capacity measured by MAOD.

**Key-words: Metformin; Carbohydrate; MAOD.**

## INTRODUÇÃO

The carbohydrate (CHO) has been used as an ergogenic supplementation aiming to increase time to exhaustion and improve performance in endurance exercises (UTTER et al., 2007; MCCONELL et al., 1999; HAFF et al., 2001; FOSKETT et al., 2007; SKEIN et al., 2012). Despite the majority of studies have associated the CHO supplementation with improvements only in prolonged exercise, some studies have observed performance enhancements in short and intense exercises (BALL et al., 1995; HARGREAVES et al., 1997; KREIDER et al., 1995; LEE et al., 2011). These studies detected a greater peak power (BALL et al., 1995), mean power (LEE et al., 2011; BALL et al., 1995; HAFF et al., 2001), minimum power (BALL et al., 1995), total work (HAFF et al., 2001) and lowest psychological fatigue (KREIDER et al., 1995) when the subjects ingested CHO in comparison to placebo. It appears that the increase in blood glucose levels is one of the physiological effects of CHO supplementation, which is also associated with the increase of glycolysis, in order to spare muscle glycogen stores and enhance endurance and anaerobic performance (HAFF et al., 2001).

One of the main actions of metformin is to increase the translocation of GLUT4 to the muscle cell membrane activating the AMPK (MALIN et al., 2012). The metformin contributes to reduce hyperglycemia and allows glucose uptake to skeletal muscle insulin-independent (ZHOU et al., 2001). Some studies have associated the intake of oral hypoglycemic agents (i.e., sulfonylureas), and exercise in an attempt to maximize the drug effects, and have found significant reduction in plasma glucose (HALLSTEN et al., 2002; GUIMARÃES et al., 2006; TANG & REED, 2001). Exercise by itself contributes to the reduction of glucose in the bloodstream independent of insulin, because it increase the calcium concentration inside of the cell, causing the activation of CAMK (calcium dependent kinase - calmodulin) and AMPK (LIMA, 2011), in order to increase the GLUT4 translocation to the membrane. Thus, it is reasonable to think that increasing the concentration of plasma glucose and similarly increasing the translocation of glucose transporter (GLUT-4) to muscle cell membrane, there would be a greater amount of energy available at the time of intense and short duration exercise.

The maximum accumulated oxygen deficit (MAOD) has been used to estimate the anaerobic capacity (MEDBO et al., 1988), and in other studies has shown to be sensitive to the consumption potential ergogenic substances that stimulate anaerobic glycolysis (DOHERTY, 1998; ELLERINGTON, 2001). MAOD is calculated by the difference between the predicted oxygen demand at submaximal tests and accumulated oxygen consumption measured during a supramaximal test (MEDBO et al., 1988). Thus, the aim of this study was to investigate the effects of ingestion of metformin with or without CHO supplementation on MAOD. Our main hypothesis was that the combination of Metformin and CHO increase the maximum accumulated oxygen deficit and the exhaustion time during intense and short duration exercise.

## **METHODS**

### **Subjects**

Nineteen healthy male subjects ( $25 \pm 5.6$  years old,  $172 \pm 8.3$  cm,  $71.3 \pm 8.7$  kg,  $11.2 \pm 3.8$  % of body fat and  $30.4 \pm 5.8$  mL/kg/min maximal oxygen uptake), who were familiar with exhaustive exercise participated in this study. Participants were about experimental risks and signed an informed consent form prior to the investigation. Ethics Committee of CESMAC (Maceio-AL, Brazil), protocol number: 1420/12, approved this study.

### **Experimental design**

The subjects performed seven experimental sessions that were separated by at least a 72h interval. During the first session, anthropometric parameters were obtained, followed by a maximal incremental exercise test in order to measure the maximal oxygen uptake ( $VO_{2max}$ ) and the power output that corresponded to  $VO_{2max}$  ( $W_{max}$ ). Six constant workload tests (three tests per session) at submaximal intensities (40 – 90%  $W_{max}$ ) were conducted during the sessions two and three to estimate oxygen demand during the supramaximal test. A supramaximal test was performed until voluntary exhaustion at 110% of  $W_{max}$  in the last four sessions. The participants were asked to refrain from exhaustive exercise, alcohol and caffeine ingestion 48h prior to data collection.

## **Anthropometry**

Subjects were weighed using an electronic scale to the nearest 0.1 kg. Height was measured with a stadiometer to the nearest 0.1 cm. Skinfold thickness was measured with a Lange Skinfold Caliper (Cambridge, Maryland, EUA) to the nearest 0.2 mm. Body fat was estimated using the equation of Jackson & Pollock (1980).

## **Maximal incremental exercise test**

The maximal incremental exercise test was carried out on an electromagnetically braked cycle ergometer (Ergofit). The seat height was adjusted for each participant, allowing near full leg extension during each pedal revolution, and these conditions were reproduced for all experimental sessions. Oxygen uptake ( $\text{VO}_2$ ) was measured breath-by-breath throughout the test using a gas analyzer (Quark- Cardio Pulmonary Exercise Testing, Cosmed, Rome, Italy). The calibration of the device was performed according to manufacturer specifications using ambient air, a gas of composition containing 20.9%  $\text{O}_2$  and 5%  $\text{CO}_2$ , and a 3L syringe (Quark- CPET, Cosmed, Rome, Italy). After a 3-min warm-up in a load of 30W, the participants exercised at a pedal frequency between 60 and 70 rpm with power output increments of  $30 \text{ Wmin}^{-1}$  until voluntary exhaustion, which was defined as the incapacity to maintain a minimum pedal cadence of 60 rpm. The participants received strong verbal encouragement to continue as long as possible.  $\text{VO}_{2\text{max}}$  was determined when two or more of the following criteria were met: an increase in  $\text{VO}_2$  of less than  $2.1 \text{ ml.kg}^{-1}.\text{min}^{-1}$  on two consecutive stages, a respiratory exchange ratio greater than 1.1, and  $\pm 10$  bpm of the maximal age-predicted heart rate (BERTUZZI et al., 2010).  $\text{W}_{\text{max}}$  was established as the power output that elicited  $\text{VO}_{2\text{max}}$ .

## **Constant workload tests**

*Submaximal tests:* The participants exercised for 10 min at six constant workloads, in the same cycle ergometer used in the incremental test, which were 40, 50, 60, 70, 80 and 90% of  $\text{W}_{\text{max}}$ , presented in a random order. The recovery time between the constant workload tests was 10 min. The  $\text{VO}_2$  for each workload was defined as the average over the last 30 seconds of the test.



*Supramaximal tests:* Participants were asked to rest quietly on the cycle ergometer for 5 min in order to determine  $VO_2$  baseline. The test was performed using a workload that corresponded to 110% of  $W_{max}$  (BERTUZZI et al., 2010). Peak oxygen uptake ( $VO_{2peak}$ ) was defined as the average of the last 30 s of the supramaximal test. Blood samples were collected from the ear lobe at rest at time points immediately, three minutes, and five minutes after exercise was stopped for the determination of  $[La^-]$  peak.

### **Administration of Metformin and Carbohydrate**

Metformin (500mg) in capsules format was ingested 1 hour before the supramaximal test, and the pure maltodextrin (2g/kg) was administered 30 minutes after the drug intake. In the placebo condition, the subjects ingested a capsule with the same color and format of metformin capsule, 1 hour before the test. After 30 minutes the subjects ingested a without sugar drink, with the same flavor, color and density of the carbohydrate drink (placebo drink). In the metformin condition, the participants ingested the metformin capsule 60 minutes before the test and after 30 minutes, the placebo drink. In the metformin and carbohydrate condition, the subjects ingested metformin and maltodextrin without flavor with a tangerine drink (without sugar), in the same time of the other conditions. In the control condition, the participants only performed the supramaximal test and ingested neither drinks nor capsules.

### **Calculations**

MAOD was calculated according to Medbo et al. (1988). Briefly, the  $VO_2$  of the six submaximal cycling bouts and their relative intensities were used to develop linear regression equations. These equations were used for estimating individual oxygen demand during the supramaximal test. The  $VO_2$  was measured breath-by-breath and integrated over time to obtain the accumulated  $VO_2$  during the supramaximal test. Thus, the MAOD was calculated as the difference between the estimated oxygen demand and the accumulated  $VO_2$  at 110% of  $W_{max}$ . To calculate the area under the curve was used the Origin Pro 7.0.

## Statistical analysis

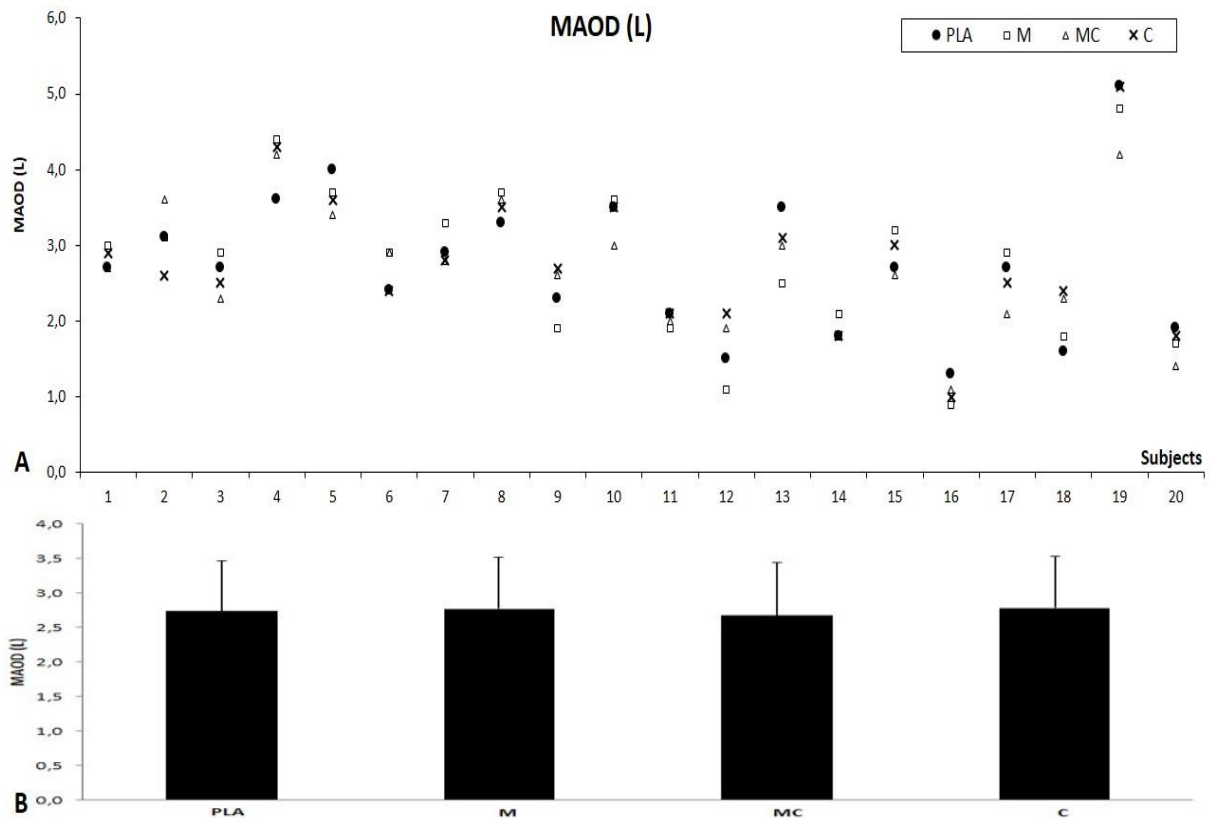
The data normality was analyzed by the Shapiro-Wilk test, and the results showed a normal Gaussian distribution. Data are reported as mean and standard deviation (SD). ANOVA one-way test was used to examine the differences between the conditions placebo, metformin, metformin and carbohydrate and control. In addition, Newmann Keus post-hoc was used. The significance level was set at  $p \leq 0.05$ .

## RESULTS

Anthropometric parameters and the  $VO_2$ max measured during the incremental test are shown in table 1. The individuals values of MAOD in all conditions (A) and the average of the placebo ( $2.7 \pm 0.9$ ), metformin ( $2.8 \pm 1$ ), metformin and CHO ( $2.7 \pm 0.8$ ) and control ( $2.8 \pm 09$ ) (B) are show in figure 1. There was no significant difference between the conditions ( $p > 0.05$ ) in maximum accumulated oxygen deficit. The rating of perceived exertion initial (RPEi) and final (RPEf) were not changed after supplementation ( $p > 0,05$ ). These data are shown in table 2. The time out in the supramaximal test and the lactate peak was not different in the carbohydrate condition (table 2).

**Table 1.** Sample Characterization (n=19).

	VO2máx (mL/Kg/min)	Years Old	Heigh (cm)	Wheight (kg)	Body Fat (%)
Average	39.4	25	172	72.3	11.2
SD	5.8	5.6	8.3	8.7	3.8



**Figure 1. (A)** Individual values of MAOD in each condition. **(B)** Average and standard deviation of the four experimental sessions (n=19). No significant difference was observed between the conditions ( $p>0,05$ ).

**Table 2.** Rating of Perceived Exertion initial (RPEi) and final (RPEf), time out and lactate peak in the placebo, metformin, metformin and carbohydrate and control (n=19). Values expressed as mean  $\pm$  standard deviation.

	PLACEBO	METFORMIN	METFORMIN AND CARBOHYDRATE	CONTROL
RPEi	6.9 $\pm$ 0.8	17.8 $\pm$ 2.1	7.7 $\pm$ 2.7	1.9 $\pm$ 1.9
RPEf	17.8 $\pm$ 2.1	17.9 $\pm$ 1.9	17.9 $\pm$ 2	17.6 $\pm$ 1.4
TIME OUT	190.4 $\pm$ 62.5	184.9 $\pm$ 34.5	173.3 $\pm$ 49.1	177.7 $\pm$ 48
LACTATE PEAK	13.8 $\pm$ 3.9	12.5 $\pm$ 3.9	14.7 $\pm$ 0.7	14.5 $\pm$ 2.8

No significant difference was observed between the conditions ( $p>0,05$ ).

## DISCUSSION

This study analyzed if the intake of metformin isolated and associated with CHO would improve the MAOD. Our results showed no significant difference in MAOD when the subjects ingested metformin compared to placebo. In addition, when administered metformin and carbohydrates, there were also no significant changes in anaerobic performance. The rating of perceived exertion (RPE) initial and final did not show significant difference in none of the conditions imposed on the subjects. Similarly, the time out in the supramaximal test was not different in the carbohydrate condition in comparison to the placebo.

Previous studies suggested that carbohydrate would be an important ergogenic supplement in intense and short duration exercises (MITCHELL et. al., 1989; JEUKENDRUP, 2004). After ingesting 4g/kg (1g/kg - 4 times a day) of CHO during 7 days, it was observed a higher time to exhaustion (pre vs. post) (Kreider et. al., 1995). A drink with 1,5g/kg of CHO ingested thirty minutes before an intermittent exercise resulted in a higher average power, higher blood glucose concentration and a higher peak power (Lee et al. 2011). High carbohydrate stores were also efficient to increasing time to exhaustion in a supramaximal exercise (115%VO<sub>2</sub>máx) (LIMA-SILVA et al., 2013). These studies showed improvements in anaerobic performance probably by increasing the muscle glycogen stores due to the chronic supplementation or nutritional strategies (KREIDER et al. 1995; LIMA-SILVA et al., 2013).

It is reported that during the first forty minutes of exercise, the muscle glycogen is the main energy substrate, without high demand of exogenous carbohydrate (ANANTARAMAN ET AL., 1995). Maybe we did not find enhances in performance due to insufficient period (30 min before supramaximal test) to cause change in the muscle glycogen stores. It is probable that individuals had ideal levels of muscle glycogen with their usual diet (LIMA-SILVA et. al., 2013). Although Lee et. al., (2011) has found improvements in performance after 30 min of a CHO supplementation, the same time of the present study, these results probably occurred because the sample was composed of adolescents. Teenagers have low levels of muscle glycogen compared to adults, perhaps this lower concentration is not satisfactory to develop anaerobic exercises, and consequently exogenous carbohydrate may increase the performance (LEE et. al., 2011).

However, our sample was composed of adults, in which could explain the differences in our results with the findings of Lee et al., (2011).

The glucose transporter (GLUT4) is responsible for glucose uptake available in the bloodstream to skeletal muscle. With a high concentration of glucose in the bloodstream, the insulinemia increases the hormone-receptor (IRS) interaction, PI3kinase and MAPkinase enzymes activity, in order to increase GLUT translocation. The metformin increases the GLUT translocation independently of insulin signaling. This process occurs via AMPK activation, similar stimulus of exercise contraction, which also includes the Ca<sup>++</sup>/calmodulin way. Therefore, through ingestion of CHO, there is the increased availability of glucose to be picked up by GLUT 4 previously to exercise, and used as the main source of energy at the time of exercise. Metformin also reduce the carbohydrate absorption by the intestine (MALIN et al., 2012). Although we have not analyzed the blood glucose levels after carbohydrate supplementation associated with metformin, we believe that the absorption of the carbohydrate was reduced by metformin ingestion. We suggest increasing the concentration of CHO in other studies to increase glucose uptake by the intestine.

Some studies have associated oral anti-hyperglycemic drugs (eg. metformin) and oral hypoglycemic agents (eg. sulfonylureas) with physical exercise to observe possible improvements on the drug effects (TANG & REED, 2001; ROURU et al., 1994; DEARAUJO et. al., 2007; BORST & SNELLEN, 2001). This association has provoked severe decrease of glucose concentration in diabetic mice as compared with the single treatment with the drug (GOODYEAR et. al. 1992). However, to intake hypoglycemic agents (eg. sulfonylureas) and performing exercises may increase the risk of hypoglycemia (TANG & REED, 2001), because this type of drug causing insulin secretion. Therefore, metformin is an antihyperglycemic drug in which does not cause the secretion of insulin. This drug has been chosen by several authors to associate to the exercise since it present little risk of hypoglycemia (DEARAUJO et al., 2007; RYNDERS et al., 2011; MALIN et al., 2012; MALIN & BRAUN, 2013) (TANG & REED, 2001). It was observed in C57BL/Ks db/db mice that swimming exercise and metformin therapy (150 mg/kg/d) reduce serum glucose concentrations (TANG & REED, 2001). Probably this decrease was due to the greater translocation of glucose transporter

to the muscle cell membrane. However, unlike the present study, the administration of drug was performed chronically, for four weeks. Similarly, several studies with mice have reported a greater reduction in blood glucose concentration when metformin administered chronically was combined with exercise. In these researchers, metformin was ingested during 12 days (300 mg/kg/d) (ROURU et al., 1994), 15 days (1,4mg/ml) (DEARAUJO et. al., 2007) and 35 days (320mg/kg/d) (BORST & SNELLEN, 2001). In addition, Borst & Snallen (2001) concluded that metformin increased glucose transport in soleus, epitrochlearis and extensor carpi ulnaris muscles. In our study, we administered 500mg of metformin, one hour before the supramaximal test and did not find significant effect in MAOD. This leads us to imagine that metformin has not s an acute effect so prominent in relation to chronic use.

In conclusion, we found that metformin ingestion do not alter the anaerobic performance. The association of metformin (500 mg) and carbohydrate (2g/kg), one hour and thirty minutes before a supramaximal test, respectively, do not improve the MAOD neither attenuate the rating of perceived exertion.

## REFERENCES

ANATARAMAN, R.; CARMINES, A.A.; GAESSER, G. A.; WELTMAN, A. **Effects of carbohydrate supplementation on performance during 1 hour of high-intensity exercise.** International journal of sports medicine. V. 16; n. 7; p. 461-465. 1995.

BALL TC, HEADLEY SA, VANDERBURGH PM, SMITH JC. Periodic carbohydrate replacement during 50 min of high-intensity cycling improves subsequent sprint performance. **Int J Sport Nutr.** - 5(2):151-8. 1995.

BORST, S.E. SNELLEN, H. G. Metformin, but not exercise training, increases insulin responsiveness in skeletal muscle of Sprague-Dawley rats. Life Sciences – 69: 1497–1507, 2001.

DEARAUJO, G.G. ARAÚJO, M.B. MOTA, C.S.A. RIBEIRO, C. D'ANGELO, R. A. MANCHADO, F.B. LUCIANO, E. Respostas fisiológicas ao exercício agudo em ratos obesos tratados com metformina. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte.** Vol. 13, Nº 6, 2007.

DOHERTY, M. The effects of caffeine on the maximal accumulated oxygen deficit and short-term running performance. **International Journal of Sport Nutrition,** Flórida, v. 8, n. 2, p. 95-104, 1998.

FOSKETT , A. WILLIAMS, C. BOOBIS, L. TSINTZAS, K. Carbohydrate availability and muscle energy- metabolism during intermittent running. **Medicine & science in sports & exercise,** 2007.

GUIMARÃES, Camila; PEREIRA, Leonardo R.L.; JÚNIOR, Nélon Lucif; CESARINO, Evandro José; ALMEIDA, Carlos A.N.; CARVALHO, Dermerval e QUEIROZ, Regina H.C. Tolerability and effectiveness of fluoxetine, metformin and sibutramine in reducing antropometric and metabolismo parameters in obese patients. **Arq Bras Endocrinol metab.** 50/6: 1020-1025, 2006.

HAFF, G.G.; SCHROEDER, A. J.; KUPHAL, Koch K. E.; COMEAU, M.J.; POTTEIGER, J.A. The effects of supplemental carbohydrate ingestion on intermitente isokinetic leg exercise. **Journal of Sports Medicine and Physical Fitness** – 41: 216-22. 2001.

HARGREAVES, Mark; FINN, J. Paul; WITHERS, Robert T.; HALBERT, Julie A.; SCROOP, Garry C. MACKAY, Malcolm; SNOW, Rodney J.; CAREY, Mitchael F. Effect of muscle glycogen availability on maximal exercise performance. **European Journal Applied Physiology** – 75: 188-192. 1997.

HALLSTEN, Kirsti; VIRTANEN, Kirsi A.; LONNQVIST, Frederik; SIPILA, Hanu; OKSANEN, Airi; VILJANEN, Tapio; RONNEMAA, Tapani; VIKARI, Jorma; KNUUTI, Juhani and NUUTILA, Pirjo. Rosiglitazone but not metformin enhances insulin- and exercise-stimulated skeletal muscle glucose uptake in patients with newly diagnosed type 2 diabetes. **Diabetes**, v.5, 2002.

JACKSON, A.S., POLLOCK, M.L. AND WARD A: Generalized equations for predicting body density of women. *Med Sci Sports Exerc.* 12: 175&SHY;182, 1980.)

JEUKENDRUP, Asker E. Carbohydrate intake during exercise and performance. **Nutrition** - 20:669 – 677, 2004.

KREIDER RB, Hill D, Horton G, Downes M, Smith S, Anders B. Effects of carbohydrate supplementation during intense training on dietary patterns, psychological status, and performance. **Int J Sport Nutr** - 5(2):125-35. 1995.

LEE JD, STERRETT LE, GUTH LM, KONOPKA AR, MAHON AD. The effect of pre-exercise carbohydrate supplementation on anaerobic exercise performance in adolescent males. **Pediatr Exerc Science** - 23(3):344-54. 2011.

LIMA, Guilherme Alves. O diabetes abole o aumento da expressão do gene SLC2A4 induzido pela contração uscular “in vitro”: Participação das cinases AMPK e CAMKII e dos fatores transcrpcionais MEF2D, GEF, HIF1- $\alpha$  e TR  $\alpha$ .



THESIS - **graduate program in physiology from the Institute of Biomedical Sciences**, University of São Paulo, Brazil, 2011.

LIMA-SILVA, A. E.; PIRES, F. O.; BERTUZZI, R.; SILVA-CAVALCANTE, M. D.; OLIVEIRA, R. S. F.; KISS, M. A.; BISHOP, D. **Effects of a low or a high-carbohydrate diet on performance, energy system contribution, and metabolic responses during supramaximal exercise.** Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism. V. 38. P.928-934. 2013.

MALIN, Steven K. and BRAUN, Barry. Effect of metformin on substrate utilization after exercise training in adults with impaired glucose tolerance. **Appl Physiol Nutr Metab.** 38: 1-4, 2013.

MALIN, S. K. GERBER, R. CHIPKIN, S. R. BRAUN, B. Independent and combined effects of exercise training and metformin on insulin sensitivity in individuals with prediabetes. **Diabetes Care** - 35: 131-136, 2012.

MCCONELL, G. SNOW, R. J. PROIETTO, J. HARGREAVES, M. Muscle metabolism during prolonged exercise in humans: influence of carbohydrate availability. **American Physiological Society**, 1999.

MEDBO, Jon Ingulf; MOHN, Arne-Christian; TABATA, Izumi; BAHR, Roald; VAAGE, Odd; SEJERSTED, Ole M. Anaerobic capacity determined by maximal accumulated O<sub>2</sub> deficit. **Journal of Applied Physiology** - 64(1): 50-60. 1988.

MITCHELL, J.B.; COSTILL, D.L.; HOUMAND, J.A.; FINK, W.J.; PASCOE, D.D.; PEARSON, D.R. Influence of carbohydrate dosage on exercise performance and glycogen use. **Journal of Applied Physiology** – 67: 1843. 1989.

ROTSTEIN A.; DOTAN R.; ZIGEL L.; GREENBERG T.; BENYAMINI Y.; FALK B. The effect of pre-test carbohydrate ingestion on the anaerobic threshold, as determined by the lactate-minimum test. **Appl Physiol Nutr Metab.** - 32(6):1058-64. 2007.

ROURU, Juha; PESONEN, Ullamari; KOULU, Markku; HUUPPONEN, Risto; SANTTI, Eriika; VIRTANEN, Kirsi; ROUVARI, Taina; JHANWAR-UNIYA, Meena. Anorectic effect of metformin in obese Zucker rats: lack of evidence for the involvement of neuropeptide Y. **European Journal of Pharmacology** – 273: 99-106, 1995.

RYNDERS, Corey; WELTMAN, Arthur; DELGIORNO, Charles; BALAGOPAL, Prabhakaran; DAMASO, Ligeia; KILLEN, Kelleigh and MAURAS, Nelly. Lifestyle intervention improves fitness independent of metformin in obese adolescents. **Medicine and science in sports and exercise**. 0195-9131/12/4405-0786/0, 2011.

SKEIN, M. DUFFIELD, R. KELLY, B. T. MARINO, F.E. The effects of carbohydrate intake and muscle glycogen content, on self-paced intermittent-sprint exercise despite no knowledge of carbohydrate manipulation. **Eur J Appl Physiol** 112:2859–2870, 2012.

TANG, T., REED, M.J. Exercise adds to metformin and acarbose efficacy in db/db mice. **Metabolism**. V.50; p.1049-53; 2001.

UTTER, Alan C.; KANG, Jie; NIEMAN, David C.; DUMKE, Charles L.; MCANULTY, Steven R. Carbohydrate attenuates perceived exertion during intermittent exercise and recovery. **Medicine and Science in Sports and Exercise** – 39(5): 880–88. 2007

ZHOU, Gaochao; MYERS, Robert; LI, Ying; CHEN, Yuli; SHEN, Xiaolan; MELODY-FENYK, Judy; WU, Margaret; VENTRE, John; DOEBBER, Thomas; FUJII, Nobuharu; MUSI, Nicolas; HIRSHMAN, Michael F.; GOODYEAR, Laurie J. and MOLLER, David E. Role of AMP-activated protein kinase in mechanism of action. **Journal of Clinical Investigation**. 108: 1167-1174, 2001.

**3º artigo: artigo de resultados**

**Metformin associated with carbohydrate supplementation do not improves the MAOD and lactic contribution.**

Revista que será submetido: International Journal of Sports Medicine.

## **ABSTRACT**

The purpose of this study was to investigate the effects of ingestion of metformin with or without CHO supplementation on MAOD<sub>ALT</sub>. Fourteen men with  $25 \pm 5.8$  years old,  $170.4 \pm 7.9$  cm,  $71.3 \pm 10$  kg,  $11.2 \% \pm 3.8$  body fat and  $39 \pm 5.6$  mL/kg/min maximal oxygen uptake ( $VO_{2max}$ ), performed the following tests: 1) incremental test in a cycle ergometer 2) 3 supramaximal tests at 110%  $VO_{2max}$  (supra  $VO_{2max}$ ). Metformin (500mg) and Carbohydrate (2g/kg) was ingested 1h and 30min. before the supra  $VO_{2max}$  test, respectively. MAOD<sub>ALT</sub> was calculated by the sum of EPOC<sub>FAST</sub> and oxygen equivalent to the accumulation of blood lactate. After checked the data normality (Shapiro-Wilk test), ANOVA one-way was used, following by the Newman-Keuls post-hoc (Statistica7.0). The significance level was set at  $p \leq 0.05$ . There were no differences in MAOD<sub>ALT</sub> between placebo ( $2.5 \pm 0.6$  L), metformin ( $2.4 \pm 0.6$  L) and metformin + carbohydrate ( $2.6 \pm 0.6$  L). However, the association of the metformin with carbohydrate improved MAOD of 71.4% of the sample.

**KEY-WORDS: Anaerobic capacity; Time to exhaustion; Lactate.**

## INTRODUCTION

The Maximal Accumulated Oxygen Deficit (MAOD) was established by Medbo et. al., (1988) as an indirect measure of anaerobic capacity (AC). It was assumed that the difference between estimated O<sub>2</sub> demand (O<sub>2</sub> measured during submaximal rectangular tests) and O<sub>2</sub> accumulated during a supra VO<sub>2</sub> maximal exercise, could estimate the AC. In prescriptions of Medbo et.al., (1988), participants are required to complete 10-20 sections. Despite all the advantages offered by this method, as to evaluate the AC without invasive analyses, sensibility to experimental interventions and high correlations with anaerobic performance, the number of sessions required to estimate the O<sub>2</sub> consumption has discouraged researchers to use the MAOD.

Recently, it was suggested an alternative method to calculate the MAOD based in two hypothesis already accepted (Bertuzzi et. al., 2010): 1) The fast component of excess post-exercise oxygen consumption (EPOC<sub>FAST</sub>) corresponds to the total energy that is used to resynthesize high-energy phosphate stores (Margaria et. al., 1933; Haseler et. al., 1999), 2) The glycolytic energy cost can be express based upon the blood lactate concentration ([La<sup>-</sup>]), which produces an O<sub>2</sub> equivalent (di Prampero and Ferretti, 1999). Thus, the alternative MAOD (MAOD<sub>ALT</sub>) is the sum of anaerobic energy expenditure (EPOC<sub>FAST</sub> + O<sub>2</sub> equivalent from blood lactate accumulation), and can be obtained in one exhaustive supra VO<sub>2</sub>max test. In addition to cost less time, the MAOD<sub>ALT</sub> is very appealing because may be useful to detect changes in alactic and lactic metabolisms. However, no studies have made association between supplementation strategies with MAOD<sub>ALT</sub> responses and changes in alactic and lactic metabolisms until now.

Increase in blood glucose levels is one of the physiological effect of carbohydrate (CHO) supplementation (HAFF et. al., 2001). By the action of glucose transporters (GLUT4), the blood glucose from the intake of CHO is transported to the muscle cell to be used as an energy source. One of the main actions of metformin (MET) is to increase the translocation of GLUT4 to the cell membrane by AMPK, allow glucose uptake to skeletal muscle insulin-independent and reduce hyperglycemia (ZHOU et al., 2001; MALIN et al., 2012). Perhaps the increases in glucose concentration, caused by ingestion of CHO, in association

with GLUT4 translocation caused by MET intake, may to increase the lactic contribution to the exercise and consequently, improve the MAOD. Using MAOD<sub>ALT</sub> it is possible verify if CHO supplementation associated with ingestion of MET caused alterations in lactic anaerobic metabolism. Thus, the aim of the present study was to investigate the effects of ingestion of MET with or without CHO supplementation on MAOD<sub>ALT</sub> in physically active subjects. Specifically, lactic changes, exhaustion time and Rating of Perceived Exertion (RPE) were evaluated after maximal effort in cycle ergometer at intensity correspondent to 110% of VO<sub>2</sub>max. It was hypothesized that MAOD<sub>ALT</sub> and lactic contribution during supramaximal test are modified due to possible previous exercise GLUT4 translocation caused by co ingestion of MET and CHO.

## **METHODS**

### **Subjects**

Sixteen healthy male subjects (25 ± 6 years old, 170.7 ± 7.4 cm, 71.3 ± 8.7 kg, 11.2 ± 3.8 % of body fat and 30.4 ± 5.8 mL/kg/min maximal oxygen uptake), who were familiar with exhaustive exercise participated in this study. Participants were about experimental risks and signed an informed consent form prior to the investigation. Ethics Committee of CESMAC (Maceio-AL, Brazil), protocol number: 1420/12, approved this study.

### **Experimental design**

The subjects performed four experimental sessions that were separated by at least a 72h interval. During the first session, anthropometric parameters were obtained, followed by a maximal incremental exercise test in order to measure the maximal oxygen uptake (VO<sub>2</sub>max) and the power output that corresponded to VO<sub>2</sub>max (Wmax). A supramaximal test was performed until voluntary exhaustion at 110% of Wmax in the last three sessions. The participants were asked to refrain from exhaustive exercise, alcohol and caffeine ingestion 48h prior to data collection.

## **Anthropometry**

Subjects were weighed using an electronic scale to the nearest 0.1 kg. Height was measured with a stadiometer to the nearest 0.1 cm. Skinfold thickness was measured with a Lange Skinfold Caliper (Cambridge, Maryland, EUA) to the nearest 0.2 mm. Body fat was estimated using the equation of Jackson & Pollock (1980).

## **Maximal incremental exercise test**

The maximal incremental exercise test was carried out on an electromagnetically braked cycle ergometer (Ergofit). The seat height was adjusted for each participant, allowing near full leg extension during each pedal revolution, and these conditions were reproduced for all experimental sessions. Oxygen uptake ( $\text{VO}_2$ ) was measured breath-by-breath throughout the test using a gas analyzer (Quark- Cardio Pulmonary Exercise Testing, Cosmed, Rome, Italy). The calibration of the device was performed according to manufacturer specifications using ambient air, a gas of composition containing 20.9%  $\text{O}_2$  and 5%  $\text{CO}_2$ , and a 3L syringe (Quark- CPET, Cosmed, Rome, Italy). After a 3-min warm-up in a load of 30W, the participants exercised at a pedal frequency between 60 and 70 rpm with power output increments of  $30 \text{ Wmin}^{-1}$  until voluntary exhaustion, which was defined as the incapacity to maintain a minimum pedal cadence of 60 rpm. The participants received strong verbal encouragement to continue as long as possible.  $\text{VO}_{2\text{max}}$  was determined when two or more of the following criteria were met: an increase in  $\text{VO}_2$  of less than  $2.1 \text{ ml}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$  on two consecutive stages, a respiratory exchange ratio greater than 1.1, and  $\pm 10$  bpm of the maximal age-predicted heart rate (BERTUZZI et al., 2010).  $W_{\text{max}}$  was established as the power output that elicited  $\text{VO}_{2\text{max}}$ .

## **Constant workload tests**

Supra  $\text{VO}_{2\text{max}}$  tests: Participants were asked to rest quietly on the cycle ergometer for 5 min in order to determine  $\text{VO}_2$  baseline. The test was performed using a workload that corresponded to 110% of  $W_{\text{max}}$  (BERTUZZI et al., 2010). Peak oxygen uptake ( $\text{VO}_{2\text{peak}}$ ) was defined as the average of the last 30 s of the supramaximal test. Blood samples were collected from the ear lobe at rest at time

points immediately, three minutes, and five minutes after exercise was stopped for the determination of  $[La^-]$  peak.

### Administration of MET and CHO

MET (500mg) in capsules format was ingested 1 hour before the supra  $VO_2$ max test, and the pure maltodextrin (2g/kg) was administered 30 minutes after the drug intake. In the placebo condition, the subjects ingested a capsule with the same color and format of MET capsule, 1 hour before the test. After 30 minutes the subjects ingested a without sugar drink, with the same flavor, color and density of the CHO drink (placebo drink). In the MET condition, the participants ingested the MET capsule 60 minutes before the test and after 30 minutes, the placebo drink. In the MET and CHO condition, the subjects ingested MET and maltodextrin without flavor with a tangerine drink (without sugar), in the same time of the other conditions.

### MAOD

MAOD was calculated according to Bertuzzi et al. (2010).  $EPOC_{FAST}$  was used as an estimative of alatic metabolism contribution. The response of the breathing cycle ( $VO_2$ max) in the supra  $VO_2$  max test was adjusted using a bi exponential model (Eq.1), and to obtain  $EPOC_{FAST}$ , was applied the Eq.2. To observe the contribution of the latic metabolism, the difference between  $[La^-]_{peak}$  and  $[La^-]_{rest}$ , expressed as  $[La^-]_{net}$ , was calculated. The value of  $1mmol^{-1}$   $[La^-]_{net}$  was considered as equivalent to  $3mlO_2kg^{-1}$  of corporal mass (di Prampero and Ferretti, 1999). Thus, the  $MAOD_{ALT}$  was obtained by the sum of  $EPOC_{FAST}$  and the contribution of lactic metabolism. To calculate the  $A_1$  and the  $\tau_1$ , we used the Origin Pro 7.0.

$$\text{Eq. 1: } \dot{V}O_{2(t)} = \dot{V}O_{2baseline} + A_1 \left[ e^{-(t-\delta)/\tau_1} \right] + A_2 \left[ e^{-(t-\delta)/\tau_2} \right]$$

$$\text{Eq. 2: } EPOC_{FAST} = A_1 \cdot \tau_1$$

where  $VO_{2(t)}$  is the oxygen uptake at time  $t$ ,  $VO_{2baseline}$  is the oxygen uptake at baseline,  $A$  is the amplitude,  $\delta$  is the time delay,  $\tau$  is the time constant, and 1 and 2 denote the fast and slow components, respectively.



## Statistical analysis

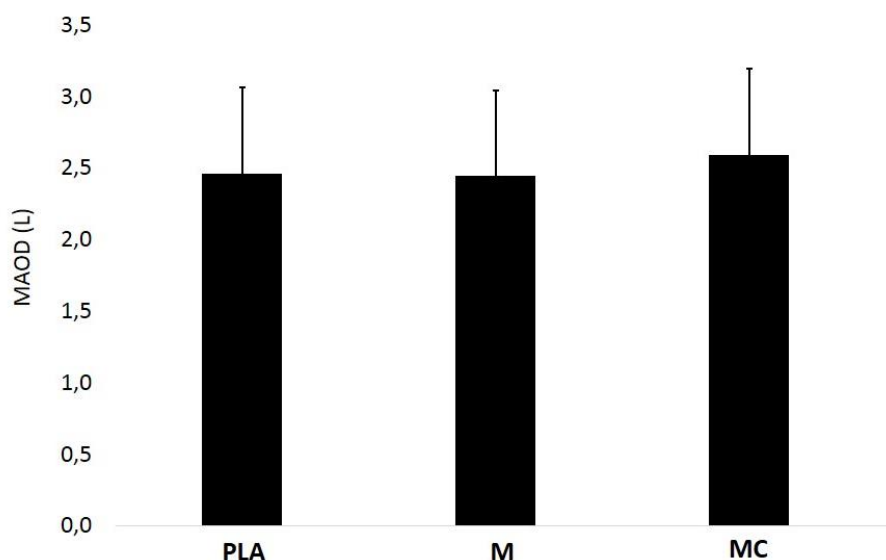
The data normality was analyzed by the Shapiro-Wilk test, and the results showed a normal Gaussian distribution. Data are reported as mean and standard deviation (SD). ANOVA one-way test was used to examine the differences between the conditions placebo, metformin and metformin + carbohydrate. In addition, Newmann Keus post-hoc was used. The significance level was set at  $p \leq 0.05$ .

## RESULTS

Anthropometric parameters and  $VO_2\max$  measured during the incremental test are shown in table 1. The average of MAOD in placebo ( $2.5 \pm 0.6$ ), MET ( $2.4 \pm 0.6$ ) and MET+CHO ( $2.6 \pm 0.6$ ) are show in figure 1. There was no significant difference among the conditions ( $p > 0.05$ ).

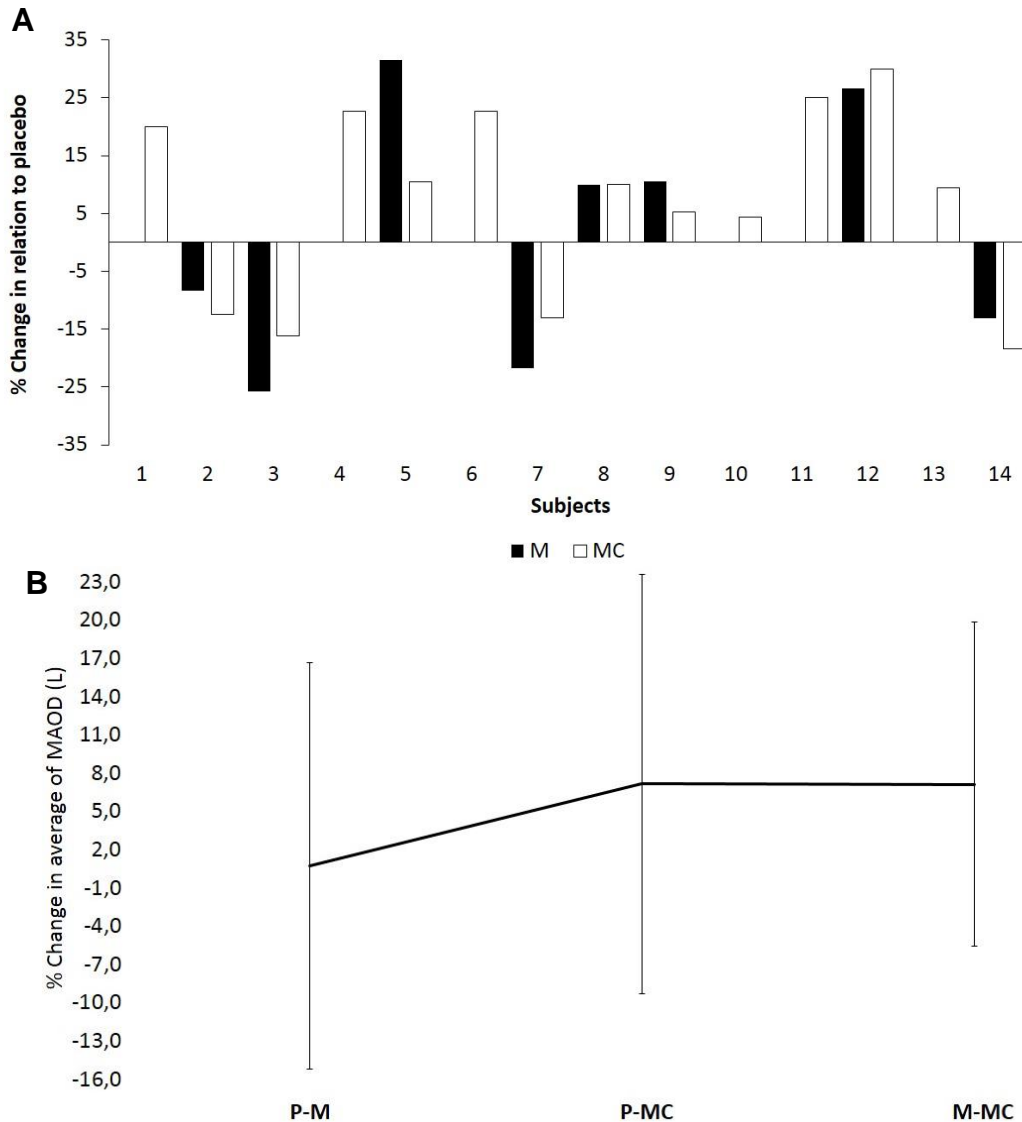
**Table 1.** Sample Characterization (n=14).

	$VO_2\max$ (mL/Kg/min)	Years Old	Heigh (cm)	Wheight (kg)	Body Fat (%)
Avarage	39	25	170.4	71.3	11.2
SD	5.6	5.8	7.9	10	3.8



**Figure 1.** Average and standard deviation of MAOD in the three experimental sessions: Placebo (PLA), Metformin (M) and Metformin + Carbohydrate (MC) (n=14). No significant difference was observed between the conditions ( $p > 0,05$ ).

The MAOD individual change (%) in MET and MET + CHO groups in relation to placebo condition and the average of this perceptual change are shown in figure 2 (A and B, respectively). In relation to the placebo condition, 71.4% of the sample showed improvements when MET+CHO were co ingested, whereas just 28.6% of the sample presented improvements after MET ingestion.



**Figure 2.** Perceptual of change in the metformin and metformin and carbohydrate conditions in relation to placebo condition (A) and average of the perceptual of change in the metformin condition in relation to placebo (P-M), metformin + carbohydrate condition in relation to placebo (P-MC) and metformin + carbohydrate in relation to metformin (M-MC) (B). No significant difference was observed between the conditions ( $p>0,05$ ), ( $n=14$ ).

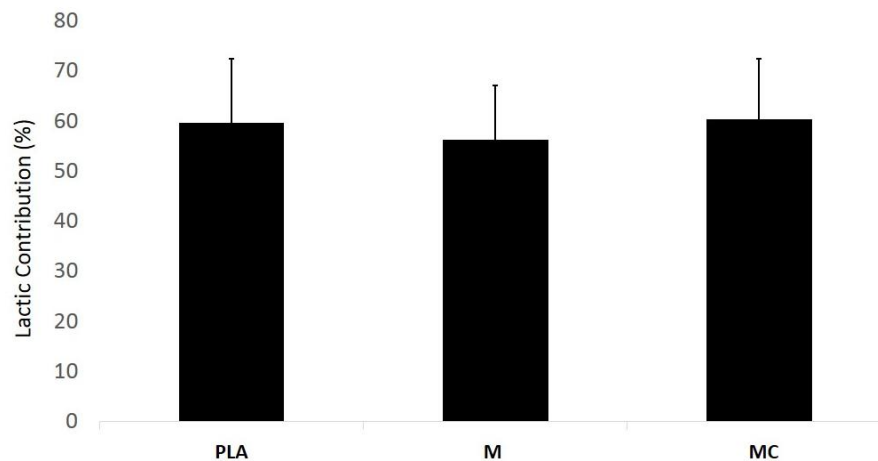
The rating of perceived exertion initial (RPEi) and final (RPEf) were not changed after supplementation ( $p>0,05$ ). The exhaustion time in supra  $VO_2max$  test and the lactate peak was not different between the conditions (Table 2). The perceptual of lactic contribution in the placebo ( $59.7 \pm 12.9$  L), metformin ( $56.4 \pm$

10.7 L) and metformin + carbohydrate (60.4 ± 12.1 L) conditions are presented in figure 3. There were no significant difference between the situations.

**Table 2.** Rating of Perceived Exertion initial (RPEi) and final (RPEf), time out and lactate peak in the placebo (PLA), metformin (M), metformin and carbohydrate (MC) and control (C) (n=16). Values expressed as mean ± standard deviation.

	PLACEBO	METFORMIN	METFORMIN AND CARBOHYDRATE
RPEi	6.6 ± 0.5	7.5 ± 2.8	7.2 ± 1.8
RPEf	17.9 ± 2	17.8 ± 2	17.8 ± 2.1
TIME OUT	181.6 ± 43.8	187.2 ± 44.8	179.1 ± 51
LACTATE PEAK	8.5 ± 2.6	8.3 ± 2.4	8.7 ± 2.8

No significant difference was observed between the conditions ( $p > 0,05$ ).



**Figure 3.** Percentage of lactic contribution in the four condition. No significant difference was observed between the conditions ( $p > 0,05$ ).

## DISCUSSION

The present study aimed to investigate the effects of MET ingestion with or without CHO supplementation on MAOD<sub>ALT</sub>. Our main hypothesis was that the increase in glucose concentration, caused by ingestion of CHO, in association with a greater translocation of GLUT4 produced by MET intake, would provoke an increase the lactic contribution and consequently, improvements in MAOD and lactic contribution. We used an alternative method to estimate the anaerobic capacity that is useful to detect changes in alactic and lactic metabolisms after supplementation strategies (BERTUZZI et. al., 2010). Our data showed no significant difference in MAOD when the subjects ingested MET or MET+CHO compared to PLA (Fig.1). The present study is the first that administered MET+CHO in healthy human in order to observe changes in relation to AC and performance. However, our results corroborate with the findings of Hargreaves et. al., (1997), that did not observe significant improvements in MAOD after CHO ingestion.

Despite no significant data, when analyzing the individual results, we observed that 71.4% of the sample showed improvements in MAOD when ingested MET+CHO compared with placebo, while only 28.6% of the sample was superior to placebo after MET alone (Figure 2A). This increase may be related to the alteration in the lactic contribution. Although we have not found significant difference in lactic contribution after the supplementation (Figure 3) or in the blood lactate concentration (table 2), we observed that the average of lactic contribution have a tendency to increase after the ingestion of MET+CHO (effect size = 0,33). After submitting the subjects to consume 2.5g/kg of CHO, Chryssanthopoulos et. al., (2004) observed that the blood lactate concentration increased after 30 minutes of the ingestion, indicating an increase in the activity of the glycolytic system. We believe, although the result was not statistically different, that there was an increase in the supply of energy substrate (glucose) for muscle when subjects ingested MET+CHO, resulting in a greater lactic contribution and improvements in MAOD in ten subjects.

Although we observed that 71.4% of the sample showed improvements in MAOD, the performance was not changed (table 2). The time out, as well the

rating of perceived exertion initial (RPEi) and final (RPEf) was not significantly different between the conditions. Thus, an improvement in anaerobic capacity does not necessarily cause an increase in performance. Minahan et al. (2007) did not show relationship between peak power measured by Wingate Anaerobic Test and anaerobic capacity evaluated by Maximal Accumulation Oxygen Deficit in cycle ergometer. The utilization rate is related to the fast fiber type adaptations (i.e., glycolytic enzymes), in which is dependent of cellular signaling caused by chronic exercise.

In the present study, the sample consisted of physically active subjects, who did not participated of anaerobic training. It is known that the trained muscle exhibits greater capacity to produce lactate compared to untrained (COGGAN et. al., 1995; AZEVEDO et. al., 1998). Perhaps the performance has not improved due to the failure to use the stored energy. Possibly the performance would have been better in trained subjects, because they presented an ideal enzyme structure to degrade the stored energy. Therefore, we conclude that metformin alone did not improve anaerobic capacity or performance in a supra  $VO_2$ max test in physically active subjects. The drug associated with carbohydrate increased MAOD in 71.4% of the sample, but this improvement was not sufficient to cause statistical results.

## REFERENCES

BELL, D. G.; JACOBS, I.; ELLERINGTON, K. Effect of caffeine and ephedrine ingestion on anaerobic exercise performance. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, Madison, v. 33, n. 8, p. 1399-1403, 2001.

BERTUZZI, R. C. M. ; FRANCHINI, E.; UGRINOWITSCH , C.; KOKUBUN, E.; LIMA-SILVA, A.E.; PIRES, F.O.; NAKAMURA, F.Y.; KISS, M.A.P.D.M. Predicting MAOD using only a supramaximal exhaustive test. **International Journal of Sports and Medicine** - 31:477-481. 2010.

CARTER, H. et al. Oxygen uptake kinetics during supra VO<sub>2</sub>max treadmill running in humans. **International Journal of Sports Medicine**, Stuttgart, v. 27, n. 2, p. 149-157, 2006.

CHATAGNON, M. et al. Comparison between maximal power in the power-endurance relationship and maximal instantaneous power. **European Journal of Applied Physiology**, Berlin, v. 94, n. 5-6, p. 711-717, 2005.

DOHERTY, M. The effects of caffeine on the maximal accumulated oxygen deficit and short-term running performance. **International Journal of Sport Nutrition**, Flórida, v. 8, n. 2, p. 95-104, 1998.

DI PRAMPERO, PE and FERRETTI, G. The energetics of anaerobic muscle metabolism: a reappraisal of older and recent concepts. **Respir Physiol**. 118:103-115, 1999.

GASTIN, P. B. Quantification of anaerobic capacity. **Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports**, Copenhagen, v. 4, p. 91-112, 1994.

HAFF, G.G.; SCHROEDER, A. J.; KUPHAL, Koch K. E.; COMEAU, M.J.; POTTEIGER, J.A. The effects of supplemental carbohydrate ingestion on intermitente isokinetic leg exercise. **Journal of Sports Medicine and Physical Fitness** – 41: 216-22, 2001.

HASELER LJ, HOGAN MC, RICHARDSON RS. Skeletal muscle phosphocreatine recovery in exercise-trained humans is dependent on O<sub>2</sub> availability . **J Appl Physiol**. 86: 2013 – 2018, 1999.

JACKSON, A.S., POLLOCK, M.L. AND WARD A: Generalized equations for predicting body density of women. **Med Sci Sports Exerc**. 12: 175&SHY;182, 1980.

KROGH, A.; LINDHARD, J. The changes in respiration at the transition from work to rest. **Journal of Physiology**, London, v. 53, no. 6, p. 431-439, 1920.

LIMA-SILVA, A. E.; PIRES, F. O.; BERTUZZI, R.; SILVA-CAVALCANTE, M. D.; OLIVEIRA, R. S. F.; KISS, M. A.; BISHOP, D. **Effects of a low or a high-carbohydrate diet on performance, energy system contribution, and metabolic reponses during supramaximal exercise**. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*. V. 38. P.928-934. 2013.

MALIN, S. K. GERBER, R. CHIPKIN, S. R. BRAUN, B. Independent and combined effects of exercise training and metformin on insulin sensitivity in individuals with prediabetes. **Diabetes Care** - 35: 131-136, 2012.

MAXWELL, N. S.; NIMMO, M. A. Anaerobic capacity: a maximal anaerobic running test versus the maximal accumulated oxygen deficit. **Canadian Journal of Applied Physiology**, Toronto, v. 21, no. 1, p.35-47, 1996.

MARGARIA R, EDWARDS HT, DILL DB. The possible mechanisms of contracting and paying the oxygen debt and the role of lactic acid in muscular contraction. **Am J Physiol**. 106:689 – 715, 1933.

MEDBO, Jon Ingulf; MOHN, Arne-Christian; TABATA, Izumi; BAHR, Roald; VAAGE, Odd; SEJERSTED, Ole M. Anaerobic capacity determined by maximal accumulated O<sub>2</sub> deficit. **Journal of Applied Physiology** - 64(1): 50-60, 1988.

MINAHAN, CL. CHIA, M. INBAR, O. Does power indicate capacity? 30-s Wingate Anaerobic Test vs. maximal accumulated O<sub>2</sub> deficit. **Int J Sports Med** - 28(10):836-43, 2007.

SCOTT, C. B. et al. The maximally accumulated oxygen deficit as an indicator of anaerobic capacity. **Medicine and Science and Sports Exercise**, Madison, v. 23, no. 5, p. 618-624, 1991.

ZHOU, Gaochao; MYERS, Robert; LI, Ying; CHEN, Yuli; SHEN, Xiaolan; MELODY-FENYK, Judy; WU, Margaret; VENTRE, John; DOEBBER, Thomas; FUJII, Nobuharu; MUSI, Nicolas; HIRSHMAN, Michael F.; GOODYEAR, Laurie J. and MOLLER, David E. Role of AMP-activated protein kinase in mechanism of action. **Journal of Clinical Investigation**. 108: 1167-1174, 2001.



### **3 CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Baseado nas pesquisas realizadas, concluímos que a ingestão de carboidrato pode contribuir no desempenho e melhorar a capacidade anaeróbia em indivíduos fisicamente ativos, assim como em atletas. A metformina tem sido usada em combinação com o exercício físico para potencializar a diminuição dos níveis de glicose. No entanto nenhum estudo até o momento procurou investigar se este fármaco possui algum efeito ergogênico. Baseados nos resultados obtidos nos estudos experimentais, concluímos que a ingestão de metformina ou a sua associação com o carboidrato, não melhora a capacidade anaeróbia, o tempo limite ou a percepção subjetiva de esforço em um teste supra  $VO_2$  máximo. A administração de metformina associada ao carboidrato aumentou o MAOD em 71,4% da amostra, no entanto esta melhoria não foi suficiente para causar resultados estatísticos.

**4 REFERÊNCIAS**

ALLGOT, B.; CAN, D.; KING, H.; et al. **Diabetes atlas, 2nd Brussels: International Diabetes Federation**; 2003.

ALTIMARI, Leandro Ricardo; MORAES, Antônio Carlos de; TIRAPEGUI, Júlio; MOREAU, Regina Lúcia de Moraes. Cafeína e performance em exercícios anaeróbios. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**; v.42, n.1. 2006.

BAILEY, C.J. Treating insulin resistance in type 2 diabetes with metformin and thiazolidinediones. **Diabetes, Obesity and Metabolism**. 2005; 7:675-91.

BELL, Douglas G.; MCLELLAN, Tom M.; SABISTON, Cathi M. Effect of ingesting caffeine and ephedrine on 10-km run performance. **Medicine & Science in Sports & Exercise**. 2001.

BERTUZZI, R.C., FRANCHINI, E., KOKUBUN, E., KISS, M.A. Energy system contributions in indoor rock climbing. **European Journal of Applied Physiology**. 101: 293 – 300; 2007.

BERTUZZI, R. C. M.; FRANCHINI, E.; UGRINOWITSCH, C.; KOKUBUN, E.; LIMA-SILVA, A. E.; PIRES, F. O.; NAKAMMURA, F. Y.; KISS, M. A. P. D. M. Predicting MAOD using only a supramaximal exhaustive test. **International Journal of Sports Medicine**; 2010; 31: 477 – 481.

DAVIS, J. Mark; ZHAO, Zuovej; STOVK, Howard S.; MEHL, Kristen A.; BUGGY, James; HAND, Gregory A. Central nervous system effect of caffeine and adenosine on fatigue. **American Journal of Physiology**; v.284, p.399–404. 2002.

DEARAUJO et al. Respostas fisiológicas ao exercício agudo em ratos obesos tratados com metformina. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**. Vol. 13, Nº 6, 2007.

FLINN, S.; GREGORY, J.; MCNAUGHTON, L. R.; TRISTRAM, S.; DAVIES, P. Caffeine ingestion prior to incremental cycling to exhaustion in recreational cyclists. **International Journal of Sports and Medicine**; v.11, p.188-193; New York. 1990.

GREEN, S.; DAWSON, B. Measurement of anaerobic capacities in humans. Definitions, limitations and unsolved problems. **Sports Medicine**-1993;15: 312 – 327.

HERMANSEN, L. and MEDBO, J. L. The relative significance of aerobic and anaerobic processes during maximal exercise of short duration. In: **Physiological Chemistry of Training and Detraining**. Medicine and Science, edited by P. Marconnet, J. Poortmans, and L. Hermanses. Basel: Karger, v.17, 1984.

HILL D.W. Determination of accumulated O<sub>2</sub> deficit in exhaustive short-duration exercise. **Canadian Journal of Applied Physiology**; 1996; 21:63-74.

INZUCCHI, S.E. Oral antihyperglycemic therapy for type 2 diabetes. *JAMA*. 2002; 287:360-72. **Journal of Strength and Conditioning Research**. 2005; 19(4):756-63.

INZUCCHI, SE; MAGGS, DG; SPOLLETT, GR; PAGE, SL; RIFE, FS; WALTON, V; SHULMAN, GI. Efficacy and metabolic effects of metformin and troglitazone in type II diabetes mellitus. **The New England Journal of Medicine**. v. 338; p.867–872; 1998.

KALKHOFF, R.K.; HARTZ, A.H.; RUPLEY, D.; KISSEBAH, A.H.; KELBER, S. Relationship of body fat distribution to blood pressure, carbohydrate, tolerance and plasma lipids in healthy obese women. **Journal of Laboratory and Clinical Medicine**; 1993.

LEVRI, M.K.; SLAYMAKER, E.; LAST, A.; YEH, J.; FERENC, J.; D'AMICO, F.; et al. Metformin as treatment for overweight and obese adults: a systematic review. **Annals of Family Medicine**. 2005;3:5.

LIMA SILVA, Adriano Eduardo; FERNANDES, T. C.; DE OLIVEIRA, F.R.; NAKAMURA; Gevaerd. Metabolismo do glicogênio muscular durante o exercício físico: mecanismos de regulação. **Revista de Nutrição**, v. 20, p. 417-429, 2007.

MCINERNEY, P.; LESSARD, S.J.; BURKE, L.M.; COFFEY, V.G.; LO GIUDICE, S.L.; SOUTHGATE, R.J.; HAWLEY, J.A. Failure to repeatedly supercompensate muscle glycogen stores in highly trained men. **Medicine and Science in Sports and Exercise**. V.37; n.3; p.404-11; 2005.

MEDBO, J.I.; BURGERS, S. Effect of training on the anaerobic capacity. **Medicine and Science in Sports and Exercise**. v. 22; p.501-507; 1990.

MEDBO, Jon Ingulf; MOHN, Arne-Christian; TABATA, Izumi; BAHR, Roald; VAAGE, Odd; SEJERSTED, Ole M. Anaerobic capacity determined by maximal accumulated O<sub>2</sub> deficit. **Journal of Applied Physiology** - 64(1): 50-60. 1988.

SOUZA, C.T.; NUNES, W.M.; GOBATTO, C.A.; DE MELLO, M.A. Insulin secretion in monosodium glutamate (MSG) obese rats submitted to aerobic exercise training. **Physiological Chemistry & Physics & Medical**. V.35, p.43-53, 2003.

STRIJCKMANS K; VANDECASTEELE C; SAMBRE J. Production and quality control of <sup>15</sup>O<sub>2</sub> and C<sup>15</sup>O<sub>2</sub> for medical use. **International Journal of Applied Radiation and Isotopes**. v.36; p.279–283; 1985.

TANG, T., REED, M.J. Exercise adds to metformin and acarbose efficacy in db/db mice. **Metabolism**. V.50; p.1049-53; 2001.

VANDEWALLE, H.; PÉRÈS, G.; MONOD, H. Standard anaerobic exercise tests. **Sports Medicine**. v.4; n.4; p.268-89; 1987.

WULFFELÉ, M.G.; KOOYA, de Zeeuw D.; STEHOUWER C.D.A.; GANSEVOORT, R.T. The effect of metformin on blood pressure, plasma cholesterol and triglycerides in type 2 diabetes mellitus: a systematic review. **Journal of Internal Medicine**. v.256; p.1-14; 2004.



## TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (T.C.L.E.)

(Em 2 vias, firmado por cada participante voluntário(a) da pesquisa e pelo responsável)

*"O respeito devido à dignidade humana exige que toda pesquisa se processe após o consentimento livre e esclarecido dos sujeitos, indivíduos ou grupos que por si e/ou por seus representantes legais manifestem a sua anuência à participação na pesquisa"*

Eu,....., tendo sido convidado(a) a participar como voluntário(a) do estudo "Metformina como recurso ergogênico associada à suplementação de carboidrato sobre a capacidade anaeróbia", que será realizada no Laboratório da Aptidão Física, Desempenho e Saúde da Universidade Federal de Alagoas, recebi do Sr. Gustavo Gomes de Araújo, funcionário público, professor universitário e pesquisador, responsável por sua execução, as seguintes informações que me fizeram entender sem dificuldades e sem dúvidas os seguintes aspectos:

- 1) Que o estudo se destina a verificar os efeitos da ingestão de metformina associada ou não à suplementação de carboidrato sobre a capacidade anaeróbia avaliada por meio do déficit máximo de oxigênio acumulado clássico ( $MAOD_{CLA}$ ) e déficit máximo de oxigênio acumulado alternativo ( $MAOD_{ALT}$ );
- 2) Que a importância deste estudo é abrir novas frentes de compreensão dos efeitos da ingestão de metformina e suplementação de carboidrato sobre o exercício de alta intensidade e curta duração;
- 3) Que os resultados que se desejam alcançar são que a metformina potencialize a síntese de glicose, aumentando os estoques de glicogênio muscular, possibilitando melhorias na capacidade anaeróbia e conseqüentemente aumente a *performance* anaeróbia. Espera-se ainda que a suplementação de carboidrato associado a doses de metformina apresente um aumento pronunciado no desempenho anaeróbio.
- 4) Que este estudo começará em 07 de Janeiro de 2013 e terminará em 29 de Junho de 2013;
- 5) Que eu participarei do estudo da seguinte maneira: visitarei o Laboratório de Aptidão Física Desempenho e Saúde da Universidade Federal de Alagoas sete vezes, separados por um intervalo mínimo de 72 horas. Durante a primeira visita, serei submetido a uma avaliação antropométrica (peso, estatura, dobras cutâneas de tórax, abdome e coxa medial) e um teste incremental, este que será iniciado com um aquecimento de três minutos e após esse período serão aplicados incrementos da carga de 30 watts (30W) por minuto até a minha exaustão voluntária, onde estarei mantendo um frequência de 60 rotações por minuto (rpm). O teste incremental só será finalizado quando eu não tiver capacidade de manter no mínimo 50 rpm. O meu consumo de oxigênio ( $VO_2$ ) e a minha frequência cardíaca (FC) serão mensurados durante todo o teste utilizando o analisador de gás e o frequencímetro, respectivamente. As amostras de sangue (25µl) serão coletadas no lóbulo da minha orelha no momento de exaustão, nos minutos 3<sup>o</sup> e 5<sup>o</sup> após o teste para determinação do lactato sanguíneo. Nas visitas dois e três, realizarei seis testes (três teste por visita) de 10 minutos e com carga constante (40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% da carga máxima-  $W_{máx}$ ) distribuídos de forma randômica. Na visita quatro, realizarei um teste supramáximo a 110%  $W_{máx}$  em um cicloergômetro. E nas visitas cinco, seis e sete, 60 minutos após ter ingerido uma cápsula de 500mg de metformina ou ser suplementado com 2g/kg de carboidrato ou 500mg de placebo, serei submetido ao mesmo teste a 110%  $W_{máx}$  de forma contrabalançada. Antes de cada teste supramáximo, realizarei um aquecimento de quatro minutos em 60 rpm. Nos testes supramáximos, novamente as amostras sanguíneas (25 µl) serão coletadas no lóbulo da minha orelha no momento de exaustão, nos minutos 3<sup>o</sup> e 5<sup>o</sup> após o teste para determinação do lactato sanguíneo. A minha  $FC_{máx}$  será definida como o maior valor obtido no final do teste e o meu  $VO_{2máx}$  será definido como a média dos últimos 30 segundos do teste supramáximo. Durante o período de coleta de dados, serei orientado a abster-se de exercício exaustivo, álcool e ingestão de alimentos ricos em carboidrato; e serei instruído a manter a mesma dieta durante o



estudo. Para isso, receberei uma dieta elaborada por um nutricionista, contendo os alimentos que devem ser evitados.

6) Que os possíveis riscos à minha saúde física e mental são complicações cardíacas que possam ocorrer durante os testes experimentais, desconforto estomacal e/ou intestinal decorrentes da suplementação de carboidrato ou ingestão do placebo, hipoglicemia devido a ingestão de metformina associado ao exercício, incômodo, dor ou até mesmo contaminação no momento da coleta sanguínea no lóbulo da orelha;

7) Que os pesquisadores adotarão as seguintes medidas para minimizar os riscos: verificar se estou livre de fatores de riscos associados a doenças cardiovasculares, pulmonares ou metabólicas; se terei disponibilidade e aptidão para iniciar o programa de testes estabelecido no presente estudo, executar corretamente todos os testes propostos, esclarecer todas as minhas dúvidas em relação ao teste, seja por escrito ou verbalmente, me explicar todos os riscos e benefícios do estudo, tomar os devidos cuidados com os instrumentos utilizados para a coleta, que serão únicos e descartáveis, assegurar a presença de um médico que será responsável pela prescrição da droga e pelos testes, devido ao possível risco de hipoglicemia, além de me prestar assistência no que diz respeito aos resultados dos testes;

8) Que poderei contar com a assistência eu serei transportado de ambulância pública ou de automóvel particular para o hospital mais próximo da Universidade, o Hospital Universitário (HU), sendo responsável por ela o professor Dr. Adriano Eduardo Lima da Silva e o médico cardiologista presente no teste;

9) Que os benefícios que deverei esperar com a minha participação são que eu terei acesso a qualquer resultado referente ao meu teste e que poderei, a qualquer momento, esclarecer minhas dúvidas com o pesquisador responsável. A pesquisa pode me ajudar a melhorar minha rotina de treinamentos de ciclismo através da verificação do meu desempenho durante os testes, evidenciados nos resultados expressos em relatório.

10) Que, sempre que desejar, serão fornecidos esclarecimentos sobre cada uma das etapas do estudo;

11) Que, a qualquer momento, eu poderei recusar a continuar participando do estudo e, também, que eu poderei retirar este meu consentimento, sem que isso me traga qualquer penalidade ou prejuízo;

12) Que as informações conseguidas através de minha participação não permitirão a identificação da minha pessoa, exceto aos responsáveis pelo estudo, e que a divulgação das mencionadas informações só será feita entre os profissionais estudiosos do assunto;

13) Que eu deverei ser ressarcido por qualquer despesa que venha a ter com a minha participação nesse estudo e, também, indenizado por todos os danos que venha a sofrer pela mesma razão, sendo que, para estas despesas foi-me garantida a existência de recursos.

Finalmente, tendo eu compreendido perfeitamente tudo o que me foi informado sobre a minha participação no mencionado estudo e, estando consciente dos meus direitos, das minhas responsabilidades, dos riscos e dos benefícios que a minha participação implica, concordo em dela participar e, para tanto eu DOU O MEU CONSENTIMENTO SEM QUE PARA ISSO EU TENHA SIDO FORÇADO OU OBRIGADO.

**Endereço do(a) participante voluntário(a):**

Domicílio: (rua, conjunto).....Bloco: .....

Nº: ....., complemento: .....Bairro: .....

Cidade: .....CEP: .....Telefone: .....

Ponto de referência: .....

**Contato de urgência (participante): Sr(a):** .....

Domicílio: (rua, conjunto).....Bloco: .....

Nº: ....., complemento: .....Bairro: .....

Cidade: .....CEP: .....Telefone: .....

Ponto de referência: .....

**Nome e Endereço do Pesquisador Responsável:** Rod. AL 101 - Norte - Km 27. Residencial Águas Mansas, Lote 3, Quadra I, Costa Brava, Paripueira-AL. CEP: 57935-000. Telefone: (82) 99793505

**Instituição:** Universidade Federal de Alagoas, Avenida Lourival Melo Mota, s/n, Cidade Universitária – Maceió – AL, CEP: 57072-900. Telefone: (82) 33222416

**ATENÇÃO: Para informar ocorrências irregulares ou danosas, dirija-se ao Comitê de Ética em Pesquisa e Ensino (COEPE), pertencente ao Centro Universitário Cesmac – FEJAL: Rua Cônego Machado, 918. Farol, CEP.: 57021-060. Telefone: 3215-5062. Correio eletrônico: cepcesmac@gmail.com**

Maceió, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
**Assinatura ou impressão datiloscópica  
do(a) voluntário(a) ou responsável legal**

(rubricar as demais folhas)

\_\_\_\_\_  
**Assinatura do responsável pelo Estudo**

(rubricar as demais folhas)

## APÊNDICE 2 – PARECER CONSUBSTANCIADO DO COMITÊ DE ÉTICA



Comitê de Ética em Pesquisa e Ensino do Centro Universitário Cesmac (COEPE)

Registro nº 25000.196371/2011-70 – CONEP/CNS/SIPAR/MS – 10/11/2011.

Maceió, 18 de fevereiro de 2013.

### PARECER CONSUBSTANCIADO

#### I) IDENTIFICAÇÃO

**Protocolo nº:** 1420/12 **Título:** Metformina como recurso ergogênico associada à suplementação de carboidrato sobre a capacidade anaeróbia.

**Grupo III Área de conhecimento:** Ciências da Saúde **Código:** 4.05

**Pesquisador Responsável:** Gustavo Gomes de Araújo

**Instituição Responsável:** Universidade Federal de Alagoas

**Data de Entrada:** 18/05/2012

**Analisado na 60ª Reunião Extraordinária**

**Data da Reunião:** 08/08/2012

#### II) SUMÁRIO GERAL DO PROTOCOLO:

Tem sido demonstrado que a metformina aumenta o consumo de glicose pelo músculo esquelético, mas ainda não se conhece sua contribuição ergogênica em esportistas que buscam aumentar a capacidade anaeróbia com fins de performance atlética. Autores relataram significativa queda da glicemia em ratos obesos tratados com metformina e verificaram que as respostas geradas por uma sessão aguda de exercício em ratos obesos foram semelhantes às ações medicamentosas do grupo metformina e que a ação do exercício (30 min de natação sem carga adicional) associado ao tratamento com metformina potencializa os efeitos de síntese e captação de glicose pela musculatura esquelética. A partir dessas constatações, fica evidente a facilitação da metformina no processo de síntese e utilização de glicose pelo músculo esquelético. Além disso, a combinação entre exercício e metformina apresenta baixo risco de hipoglicemia. A ingestão de carboidrato durante o exercício pode retardar a fadiga em até 30-60 min. No entanto, ainda é desconhecido o efeito da suplementação de carboidrato associado à ação da metformina no aumento da capacidade anaeróbia. Assim, o objetivo do presente estudo será verificar os efeitos da ingestão de metformina associada ou não à suplementação de carboidrato sobre a capacidade anaeróbia avaliada por meio do máximo déficit de oxigênio acumulado clássico (MAODCLA) e máximo déficit de oxigênio acumulado alternativo (MAODALT). Para que através deste estudo possam ser abertas novas frentes de compreensão dos efeitos da ingestão de metformina e suplementação de carboidrato sobre o exercício de alta intensidade e curta duração. Pesquisa do tipo experimental em que todos os indivíduos serão submetidos a sete determinadas intervenções: Teste Incremental, Testes submáximos, Testes submáximos, Teste supramáximo, Teste supramáximo (metformina: 500mg), Teste supramáximo (metformina 500mg + carboidrato: 2g/kg), Teste supramáximo (500 mg de placebo: substância a base de celulose), que será realizada no laboratório de aptidão física de desempenho e saúde da Faculdade de Nutrição de uma Universidade Pública de Alagoas. Quinze (15) indivíduos do sexo masculino, familiarizados com exercícios exaustivos farão parte do estudo. Os procedimentos serão realizados em sete visitas, separadas por um intervalo mínimo de 72 horas. Durante a primeira visita, os sujeitos serão submetidos a uma avaliação antropométrica (peso, estatura, dobras cutâneas de tórax, abdome e coxa medial) para caracterização da amostra, e um teste incremental para mensurar VO<sub>2</sub>máx e carga máxima (Wmáx). Nas visitas dois e três, os sujeitos serão submetidos a seis testes (três teste por visita) de 10 minutos e com carga constante (40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% Wmáx) distribuídos de forma randômica. Na visita quatro, os sujeitos realizarão um teste supramáximo a 110% Wmáx em um cicloergômetro. E nas visitas cinco, seis e sete, após a suplementação de metformina, carboidrato ou placebo, os sujeitos realizarão o mesmo teste a 110% Wmáx de forma contrabalançada. Os testes supramáximos serão precedidos de um aquecimento de quatro minutos em 60 rpm. Todos os testes serão realizados no mesmo horário do dia e pelo menos duas horas após a última refeição. Os testes supramáximos serão baseados na carga máxima obtida no teste incremental e realizados de forma randômica. Os sujeitos serão orientados a abster-se de exercício exaustivo, álcool e ingestão de alimentos ricos em carboidrato antes da coleta de dados, e serão instruídos a manter a mesma dieta durante o estudo. Para isso, será fornecida uma dieta elaborada por um nutricionista, contendo os alimentos que devem ser evitados pelos sujeitos. O teste incremental será iniciado com um aquecimento de três minutos, após esse período serão aplicados incrementos de 30 watts (W) por minuto até a exaustão voluntária, mantendo uma frequência de 60 rotações por minuto (rpm) e será finalizado quando o sujeito não tiver capacidade de manter no mínimo 50 rpm. O VO<sub>2</sub> e a frequência cardíaca (FC) serão mensurados durante todo o teste utilizando o analisador de gás e o frequencímetro, respectivamente. O VO<sub>2</sub>máx será determinado

quando dois ou mais dos seguintes critérios forem atingidos: um aumento no  $\text{VO}_2\text{máx}$  de menos que  $2 \text{ ml kg}^{-1} \text{ min}^{-1}$  em dois estágios consecutivos, uma relação de troca respiratória maior que 1,1, concentração de lactato sanguíneo mais alto que  $8 \text{ mmol L}^{-1}$ , e  $\pm 10 \text{ bpm}$  da taxa cardíaca máxima predita pela idade. A suplementação utilizada será administrada via oral, em formato de cápsulas, que serão preparadas e lacradas em farmácia de manipulação. A norma recomenda para doses iniciais de metformina deve ser de 500 a 1000mg entre uma a duas vezes por dia. Na presente investigação, faremos uso da dosagem mínima (500mg) de metformina com indivíduos saudáveis, aliada ou não  $2 \text{ g/kg}$  de carboidrato. Uma hora antes dos testes supramáximos, os participantes irão ingerir uma cápsula de 500mg de metformina e/ou  $2 \text{ g/kg}$  de carboidrato ou 500mg de placebo com 200ml de água. As cápsulas de placebo (substância a base de celulose, que também serão preparadas em farmácia de manipulação) devem possuir mesmo formato, tamanho e cor das cápsulas do grupo metformina e carboidrato, evitando que os participantes percebam diferenças entre as cápsulas, excluindo qualquer tipo de influência psicológica. Após randomização serão orientados a permanecerem em repouso durante 5 minutos em cima do cicloergômetro para que o  $\text{VO}_2$  inicial seja determinado. As amostras sanguíneas ( $25 \mu\text{l}$ ) serão coletadas no lóbulo da orelha nos momentos: 3º minuto, 5º minuto e logo após o final do teste, para determinar o pico de lactato sanguíneo. A  $\text{FCmáx}$  será definida como o maior valor obtido no final do teste e o  $\text{VO}_2\text{máx}$  será definido como a média dos últimos 30 segundos do teste supramáximo. Os principais instrumentos que serão utilizados para a coleta de dados são: um cicloergômetro para determinar o  $\text{VO}_2\text{máx}$  e a  $\text{Wmáx}$ . Para armazenar os dados no computador, será utilizado o Tacx Trainer Software 3.0. Para realizar a avaliação antropométrica, serão utilizados um adipômetro, fita métrica e uma balança/estadiômetro. Para analisar o  $\text{VO}_2\text{máx}$ , será utilizado o analisador de gás. Para analisar a concentração de lactato, será utilizado o analisador de lactato sanguíneo. E para analisar a frequência cardíaca, será utilizado um Cardíofrequencímetro integrado ao analisador de gás. O teste de Shapiro-Wilk será utilizado para analisar a distribuição dos dados. Caso os dados atendam os pressupostos de normalidade, um teste t pareado será usado para examinar as diferenças entre MAODpla, MAODcarb, MAODmet, MAODmet+carb. O nível de significância será fixado em  $p < 0,05$ . Os sujeitos serão convidados em sala de aula para participar da pesquisa, os que aceitarem receberão o TCLE e após informação, assinarão o mesmo. Serão incluídos sujeitos sexo masculino e familiarizados com exercícios exaustivos e excluídos sujeitos que já façam uso de metformina ou carboidrato como suplemento nutricional. O pesquisador possui a responsabilidade de garantir a qualidade do consentimento livre, esclarecido e voluntário, devendo interromper a pesquisa quando perceber algum risco ou dano à saúde do sujeito participante da pesquisa. Descrevem-se, também, outros fatores e acontecimentos que imediatamente percebidos farão com que o estudo seja interrompido, como desistência voluntária, falhas metodológicas e nos equipamentos ou quando diagnosticadas alterações fisiológicas durante os testes. Os possíveis riscos à saúde física e mental do sujeito envolvem complicações cardíacas que possam ocorrer durante os testes experimentais, desconforto estomacal e/ou intestinal decorrentes da suplementação de carboidrato ou ingestão do placebo e hipoglicemia devido à ingestão de metformina associado ao exercício. Por isso, será de responsabilidade do pesquisador, executar corretamente todos os testes propostos, esclarecer ao sujeito, por escrito e verbalmente, todos os riscos e benefícios do estudo, assegurar a presença de um médico que será responsável pela prescrição da droga e pelos testes, devido ao possível risco de hipoglicemia, além de prestar assistência ao voluntário no que diz respeito aos resultados dos testes. A Instituição fornecerá acessibilidade ao local dos testes para os voluntários do projeto. Os benefícios do estudo para os sujeitos será o acesso a qualquer resultado referente ao teste, com liberdade de buscar esclarecer dúvidas com o pesquisador responsável. A pesquisa pode ajudar o sujeito a melhorar sua rotina de treinamento através da verificação do desempenho durante os testes, evidenciado nos resultados.

**III) TCLE (linguagem adequada, descrição dos procedimentos, identificação dos riscos e desconfortos esperados, endereço do responsável, ressarcimento, sigilo, liberdade de recusar ou retirar o consentimento, entre outros):**

Apresentado com identificação das diretrizes definidas na Resolução 196/96 CNS/MS

#### **IV) CONCLUSÃO DO PARECER**

**APROVADO**

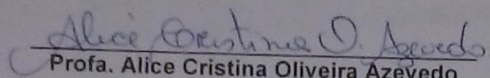
#### **V) CONSIDERAÇÕES**

Ilmo. Prof. Dr. **Gustavo Gomes de Araújo**, lembre-se que, segundo a res. CNS 196/96:

- Sujeito da pesquisa tem a liberdade de recusar-se a participar ou de retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, sem penalização alguma e sem prejuízo ao seu cuidado e deve receber cópia do TCLE, na íntegra, por ele assinado, a não ser em estudo com autorização de declínio,

- V.S.<sup>a</sup> deve desenvolver a pesquisa conforme delineada no protocolo aprovado e descontinuar o estudo somente após análise das razões da descontinuidade por este CEP, exceto quando perceber risco ou dano não previsto ao sujeito participante ou quando constatar a superioridade de regime oferecido a um dos grupos da pesquisa que requeiram ação imediata;
- O CEP deve ser imediatamente informado de todos os fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo. É responsabilidade do pesquisador, assegurar medidas imediatas adequadas a evento adverso ocorrido e enviar notificação a este CEP;
- Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser apresentadas ao CEP de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas;
- Seus relatórios parciais e final devem ser apresentados a este CEP, inicialmente em 14/05/2013 e ao término do estudo. A falta de envio de, pelo menos, o relatório final da pesquisa implicará em não recebimento de um próximo protocolo de pesquisa de vossa autoria.

Atenciosamente,

  
**Profa. Alice Cristina Oliveira Azevedo**  
Coord. do COEPE/CESMAC

1  
o  
a  
o.  
s  
a  
o  
da  
io,  
as,  
ma  
da  
itos  
J%.  
io a  
ina,  
stes  
ados  
ados  
ster-  
serãc  
ir un  
m ur  
até  
sujet  
uran  
nina



**ANEXO 1- ESCALA DE PERCEPÇÃO SUBJETIVA DE ESFORÇO DE BORG****PERCEPÇÃO SUBJETIVA DE ESFORÇO**

(Borg & Noble, 1974)

<b>6</b>	-
<b>7</b>	<b>muito fácil</b>
<b>8</b>	-
<b>9</b>	<b>fácil</b>
<b>10</b>	-
<b>11</b>	<b>relativamente fácil</b>
<b>12</b>	-
<b>13</b>	<b>ligeiramente cansativo</b>
<b>14</b>	-
<b>15</b>	<b>cansativo</b>
<b>16</b>	-
<b>17</b>	<b>muito cansativo</b>
<b>18</b>	-
<b>19</b>	<b>exaustivo</b>
<b>20</b>	-