

EFEITO DO CGT E DO CLEMBUTEROL NO PERFIL METABÓLICO DO MÚSCULO ESQUELÉTICO DESNERVADO

CGT AND CLENBUTEROL EFFECT IN METABOLIC PROFILE OF DENERVATED SKELETAL MUSCLE

Karina Maria CANCELLIERO^{1,2}

Carlos Alberto da SILVA^{1,2}

Franciléia Gideone BARROS^{1,2}

Rita de Cássia Lordello Chaim MENEZES^{1,2}

RESUMO

Objetivo

Sabendo-se que três dias após a desnervação a musculatura esquelética apresenta redução na atividade contrátil e na efetividade das vias metabólicas, a proposta deste estudo foi investigar se a suplementação com o complexo creatina/glutamina/taurina, ou com clenbuterol, modifica a intensidade dos eventos deflagrados pós-desnervação, nos músculos sóleo, gastrocnêmio branco e gastrocnêmio vermelho.

Métodos

Ratos machos *Wistar* foram divididos em 3 grupos (n=6): Desnervado; Desnervado tratado com creatina/glutamina/taurina; e Desnervado tratado com clenbuterol,

¹ Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade Metodista de Piracicaba. Campus Taquaral, Rodovia do Açúcar, Km 156, 13400-911, Piracicaba, SP, Brasil. Correspondência para/Correspondence to: K.M. CANCELLIERO. E-mail: karca@terra.com.br

² Mestrado em Fisioterapia, Departamento de Programa de Pós-Graduação, Faculdade de Ciências de Saúde, Universidade Metodista de Piracicaba, SP, Brasil.

diariamente por 3 dias. Avaliariam-se as reservas de glicogênio, o peso do sóleo, a glicemia e a lactatemia.

Resultados

Os músculos desnervados apresentaram redução nas reservas de glicogênio: de 48,0% no músculo sóleo, de 31,0% no gastrocnêmio branco e de 31,0% no gastrocnêmio vermelho. O tratamento com creatina/glutamina/taurina promoveu aumento nas reservas de glicogênio dos músculos normais (de 9,0% no sóleo, 14,0% no gastrocnêmio branco e 10,0% no gastrocnêmio vermelho) e, de forma mais relevante, nos músculos desnervados (23,0% no sóleo, 25,0% no gastrocnêmio branco e 18,0% no gastrocnêmio vermelho). O clenbuterol também promoveu elevação nas reservas de glicogênio, tanto nos músculos normais (15,0% no sóleo, 48,0% no gastrocnêmio branco e 28,0% no gastrocnêmio vermelho), quanto nos desnervados (53,0% no sóleo, 55,0% gastrocnêmio branco e 45,0% no gastrocnêmio vermelho). O peso muscular do sóleo reduziu-se em 3,4% devido à desnervação. Na presença do clenbuterol, o peso do músculo sóleo normal aumentou 13,8% e o desnervado somente 4,4%; porém, com o complexo creatina/glutamina/taurina não houve diferença. Quanto às concentrações plasmáticas de glicose e lactato se mantiveram em níveis normais.

Conclusão

As condições energéticas dos músculos esqueléticos suplementados foram melhores dos que os não tratados, destacando o clenbuterol, o qual mostrou-se efetivo na manutenção da musculatura sob condição aguda de desnervação.

Termos de indexação: músculo esquelético, clenbuterol, creatina, glutamina, taurina.

A B S T R A C T

Objective

Considering that three days after denervation the skeletal muscles show reduction in contractile activity and in metabolic ways effectivity, the purpose of this study was to investigate if treatments with creatine/glutamine/taurine or clenbuterol supplements, would change the intensity of events occurred after denervation, in the following muscles: soleus, white gastrocnemius and red gastrocnemius.

Methods

Male Wistar mice were divided in 3 groups (n=6): Denervated; Denervated treated with creatine/glutamine/taurine; and Denervated treated with clenbuterol, all for 3 days, daily. Glycogen stores, soleus weight, glycaemia and plasmatic lactic acid were evaluated.

Results

The denervated muscles showed glycogen stores reduction of 48.0% in soleus, 31.0% in white gastrocnemius and 31.0% in glycogen stores. The treatment

with creatine/glutamine/taurine promoted increase in normal muscles's glycogen stores (9.0% in soleus, 14.0% in white gastrocnemius and 10.0% in red gastrocnemius) and more relevant in denervated muscles (23.0% S, 25.0% in white gastrocnemius and 18.0% in red gastrocnemius). The clenbuterol also promoted increase in glycogen stores as much in normal muscles (15.0% in soleus, 48.0% in white gastrocnemius and 28.0% in red gastrocnemius) as denervated muscles (53.0% soleus, 55.0% white gastrocnemius and 45.0% in red gastrocnemius). The soleus muscular weight decreased in 3.4% due to denervation. In the presence of clenbuterol, the normal weight of soleus increased 1.8%, while the denervated soleus weight increased only 4.4%; however, muscles treated with creatine/glutamine/taurine presented no difference. The glucose and lactate plasmatic concentrations remained in normal levels.

Conclusion

Energetic conditions of the supplemented muscles were better than those of untreated muscles; pointing out the clenbuterol that showed to be efficient in muscle maintenance during a denervation acute condition.

Index terms: *muscle, skeletal, clenbuterol, creatine, glutamine, taurine.*

INTRODUÇÃO

A desnervação, modelo de resistência à insulina, se caracteriza por diminuição da habilidade do hormônio em estimular a captação da glicose, a síntese de glicogênio, e o transporte de aminoácidos através da membrana plasmática¹, além da redução da expressão do RNAm dos transportadores de glicose, GLUT1 e GLUT4². Alguns trabalhos mostraram que esses efeitos já podem ser observados três horas após a secção do nervo e que a partir do terceiro dia pós-desnervação há redução de 80% na sensibilidade à insulina^{3,4}.

Segundo Turinsky *et al.*³ a enzima Aktl-kinase medeia a captação da glicose estimulada pela insulina através da translocação do GLUT4 para a membrana plasmática; e que, após três dias de desnervação do músculo sóleo, a atividade dessa enzima é reduzida em 86%, enquanto que o transporte da glicose estimulado pela insulina é reduzido em 60%. Assim, ressaltam a importância da enzima no transporte da glicose e na síntese de glicogênio em tecidos insulino-sensíveis.

De acordo com Bassit *et al.*⁵ a glutamina é o aminoácido mais abundante nos músculos; ela atua

no sistema imunológico, além de auxiliar no processo de regeneração da fibra muscular, podendo auxiliar em estados crônicos desenvolvidos frente a patologias ou lesões teciduais quando suplementada. Para alguns nutricionistas, a glutamina não é considerada como "não essencial", devido à sua grande importância tanto para a síntese dos demais aminoácidos quanto para a manutenção da homeostase de vários tecidos durante estados catabólicos⁶.

A creatina é uma substância encontrada principalmente no tecido muscular formada por três aminoácidos - arginina, glicina e metionina - e constitui uma fonte de energia química para a contração muscular, sendo elemento fundamental para a ressíntese imediata do ATP⁷. Robinson *et al.*⁸ atribuíram à suplementação com creatina o aumento nas reservas de glicogênio pelo fato dela induzir o aumento do volume celular. Apesar dessas observações, os estudos ainda se contrapõem quanto ao seu efeito no aumento da massa muscular.

Por outro lado, a taurina é um aminoácido condicionalmente essencial, não incorporado às proteínas, encontrado livre nos tecidos. Sua produção ocorre no fígado e estudos têm demonstrado que este

aminoácido mimetiza a ação da insulina, estimulando a absorção de glicose para as células, fato sugestivo que possa estimular a formação de glicogênio⁹.

Atrofia induzida por desnervação tem sido usada como um modelo para se estudar o processo de desgaste muscular. O clenbuterol é um de uma série dos agonistas β_2 -adrenérgicos que exibe um anabolismo muscular específico e efetivamente um aumento protéico em ambos músculos normal e lesado¹⁰. Porém, segundo Sneddon *et al.*¹¹ esse mecanismo ainda é desconhecido.

No estudo de Fitton *et al.*¹² foi demonstrado que o clenbuterol tem um efeito protetor no músculo desnervado antes da sua reinervação, reduzindo a perda de proteínas e a atrofia das fibras musculares e, em parte, preservando a performance contrátil. Em ratos, doses terapêuticas (10 μ g/kg peso) bloqueiam parcialmente a atrofia muscular associada com a desnervação sem demonstrar efeitos nos músculos inervados¹³, além de não mostrar efeitos anabólicos no coração, fato importante pelo órgão apresentar adrenoceptores β_2 ¹².

Sabendo-se que três dias após a desnervação há comprometimento tanto na atividade contrátil quanto nas vias metabólicas do músculo esquelético, o objetivo do trabalho foi avaliar o efeito do CGT (creatina/glutamina/taurina) e do clenbuterol sobre o perfil químico-metabólico dos músculos sóleo, porção branca e porção vermelha do gastrocnêmio após 3 dias de desnervação e verificar se os tratamentos interferem na intensidade dos eventos deflagrados pós-desnervação.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados ratos machos, albinos, *Wistar* com idade variando de 3 a 4 meses fornecidos pelo Biotério da Universidade Metodista de Piracicaba, tratados com ração e água *ad libitum*, submetidos a ciclo fotoperiódico de 12h claro e 12h escuro.

Os animais foram divididos em três grupos (n=6): desnervado, desnervado tratado com CGT e desnervado tratado com clenbuterol, sendo a pata contralateral usada como controle.

Para a desnervação os ratos foram anestesiados com pentobarbital sódico, (Hypnol, Cristália, SP), na concentração de 40mg/kg de peso corporal, sendo tricotomizados na porção posterior das coxas por onde uma porção de 0,5mm do nervo ciático foi seccionada e retirada, segundo o modelo utilizado por Coderre *et al.*². Esta condição se manteve durante 3 dias para os grupos.

O CGT (1g/kg peso) foi administrado pela via oral, diluído e disponível *ad libitum* na água para beber e o clenbuterol (10 μ g/kg peso) pela via subcutânea. Os tratamentos se iniciaram logo após a desnervação, mantidos diariamente por 3 dias.

Após o procedimento experimental, os animais foram sacrificados. O sangue coletado foi centrifugado por 10 minutos a 2500 rpm e o plasma separado. Os músculos sóleo e gastrocnêmio branco e vermelho foram cuidadosamente isolados, retirados e encaminhados para a avaliação do conteúdo de glicogênio e o sóleo para avaliação do peso.

Para determinação do conteúdo de glicogênio muscular foi utilizado o método do fenol sulfúrico, segundo Siu *et al.*¹⁴, no qual as amostras dos músculos foram digeridas em KOH 30% a quente e o glicogênio precipitado a partir da passagem por etanol. Entre uma fase e outra da precipitação, as amostras foram centrifugadas a 3000 rpm durante 15 minutos e o glicogênio precipitado foi submetido à hidrólise ácida na presença de fenol. Os valores foram expressos em mg/100mg de peso úmido.

Para determinar a glicemia e a lactatemia foram utilizados *kits* de uso laboratorial. A análise estatística dos dados foi feita através da análise de variância, seguida do teste de Tukey, com nível crítico de 5% ($p < 0,05$).

RESULTADOS

Inicialmente, foi avaliado o efeito da desnervação sobre o conteúdo muscular de glicogênio, observando-se redução significativa de 48% no sóleo (S) (Controle (C): 0,33 \pm 0,02 (média \pm epm) e Desnervado (D): 0,17 \pm 0,02mg/100mg), 31% na

porção branca do gastrocnêmio (GB) (C: $0,29 \pm 0,02$ e D: $0,20 \pm 0,01$) e 31% na porção vermelha do gastrocnêmio (GV) (C: $0,32 \pm 0,02$ e D: $0,22 \pm 0,01$), caracterizando a inter-relação entre a homeostasia da junção neuromuscular e o controle no metabolismo muscular dos carboidratos (Figuras 1, 2 e 3).

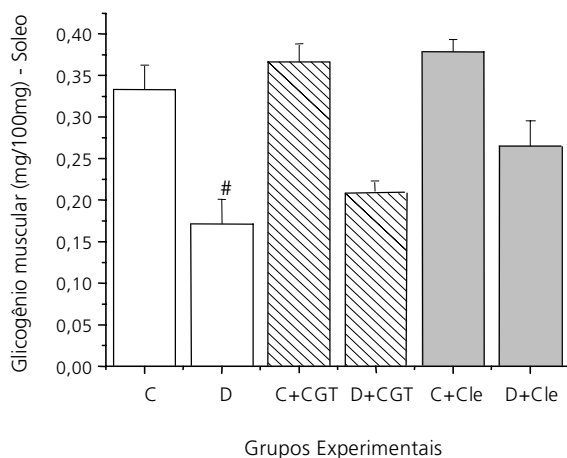


Figura 1. Concentração de glicogênio (mg/100mg) do músculo sóleo dos grupos Controle (C), Desnervado (D), Controle + CGT (C+CGT), Desnervado + CGT (D+CGT), Controle + Clenbuterol (C+Cle), Desnervado + Clenbuterol (D+Cle). Os valores correspondem à média \pm epm, n=6. (*) $p < 0,05$ comparado ao desnervado, (#) $p < 0,05$ comparado ao controle.

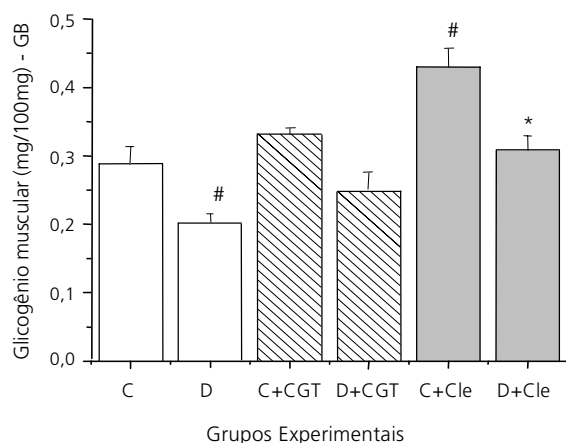


Figura 2. Concentração de glicogênio (mg/100mg) do músculo gastrocnêmio branco dos grupos Controle (C), Desnervado (D), Controle + CGT (C+CGT), Desnervado + CGT (D+CGT), Controle + Clenbuterol (C+Cle), Desnervado + Clenbuterol (D+Cle). Os valores correspondem à média \pm epm, n=6. (*) $p < 0,05$ comparado ao desnervado, (#) $p < 0,05$ comparado ao controle.

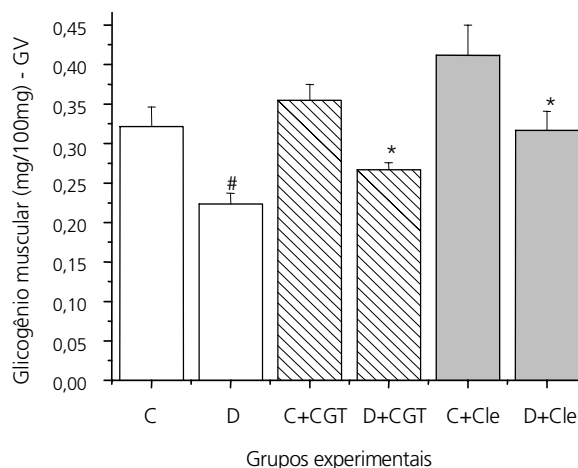


Figura 3. Concentração de glicogênio (mg/100mg) do músculo gastrocnêmio vermelho dos grupos Controle (C), Desnervado (D), Controle + CGT (C+CGT), Desnervado + CGT (D+CGT), Controle + Clenbuterol (C+Cle), Desnervado + Clenbuterol (D+Cle). Os valores correspondem à média \pm epm, n=6. (*) $p < 0,05$ comparado ao desnervado, (#) $p < 0,05$ comparado ao controle.

Para determinar a ação metabólica do complexo CGT, primeiramente ele foi administrado na musculatura esquelética normal e após, avaliado o conteúdo de glicogênio. Neste contexto, foi observado que o suplemento promoveu um aumento de 9% no conteúdo de glicogênio do S (C: $0,33 \pm 0,02$ e CGT: $0,36 \pm 0,02$), 14% no GB (C: $0,29 \pm 0,02$ e CGT: $0,33 \pm 0,008$) e 10% no GV (C: $0,32 \pm 0,02$ e CGT: $0,35 \pm 0,02$), porém sem diferença estatística.

No que tange à musculatura desnervada, o CGT promoveu maior efeito nas reservas de glicogênio do que na musculatura normal, havendo aumento de 23% no S (D: $0,17 \pm 0,02$ e D+CGT: $0,21 \pm 0,01$), 25% no GB (D: $0,20 \pm 0,01$ e D+CGT: $0,25 \pm 0,02$) e 18% no GV (D: $0,22 \pm 0,01$ e D+CGT: $0,26 \pm 0,08$), comparadas ao grupo desnervado sem tratamento, porém esse aumento foi diferente estatisticamente no GV (Figuras 1, 2 e 3).

Em relação ao clenbuterol (Cle), este também promoveu elevação no conteúdo de glicogênio na musculatura normal, sendo 15% no S (C: $0,33 \pm 0,02$ e Cle: $0,38 \pm 0,01$), 48% no GB (C: $0,29 \pm 0,02$ Cle: $0,43 \pm 0,02$) e 28% no GV (C: $0,32 \pm 0,02$ e Cle: $0,41 \pm 0,03$), com diferença estatística somente no GB. Na musculatura desnervada, o

aumento das reservas foi mais relevante, sendo 53% no S (D: $0,17 \pm 0,02$ e Cle: $0,26 \pm 0,03$), 55% no GB (D: $0,20 \pm 0,01$ e Cle: $0,31 \pm 0,02$) e 45% no GV (D: $0,22 \pm 0,01$ e Cle: $0,32 \pm 0,02$), sendo estatisticamente diferente nos dois últimos músculos (Figuras 1, 2 e 3).

Em relação à massa muscular do sóleo (Figura 4), foi observada uma redução de 3,4% (C: $143,5 \pm 8$ (média \pm epm) e D: 138 ± 8 mg) em decorrência da desnervação, possivelmente devido à proteólise desenvolvida pós-desnervação. Por outro lado, na presença do clembuterol o peso do sóleo normal aumentou 13,8% (C: $143,5 \pm 8$ e Cle: $163,3 \pm 4$), enquanto no desnervado observou-se aumento de somente 4,4% (D: 138 ± 8 e D+Cle: $144,1 \pm 7$), não sendo diferente estatisticamente. Cabe destacar que o tratamento com o CGT não promoveu alteração no peso muscular.

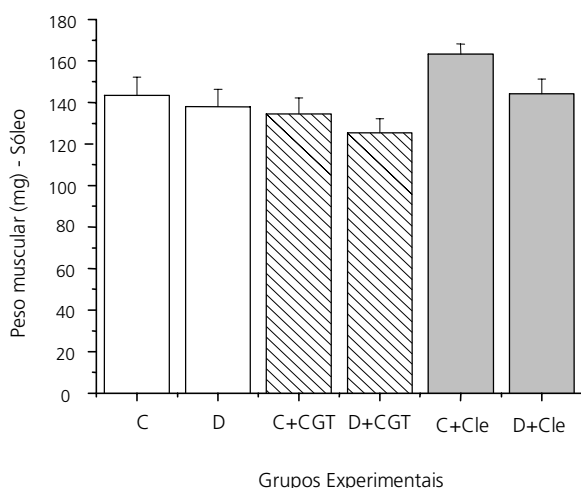


Figura 4. Peso do sóleo (mg) dos grupos Controle (C), Desnervado (D), Controle + CGT (C+CGT), Desnervado + CGT (D+CGT), Controle + Clembuterol (C+Cle), Desnervado + Clembuterol (D+Cle). Os valores correspondem à média \pm epm, n=6. (*) $p < 0,05$ comparado ao desnervado, (#) $p < 0,05$ comparado ao controle.

Quanto às concentrações plasmáticas de glicose, estas se mantiveram dentro da normalidade em todas as condições avaliadas, sendo $72 \pm 2,4$ mg/dL (média \pm epm) no grupo desnervado, $94,8 \pm 1,2$ mg/dL no desnervado tratado com CGT e $83,1 \pm 3,4$ mg/dL no tratado com clembuterol. As concentrações plasmáticas de lactato também se mantiveram em

níveis normais, sendo de $3,4 \pm 0,18$ mmol/L no grupo desnervado, de $2,3 \pm 0,07$ para o desnervado tratado com CGT e de $3,6 \pm 0,29$ para o tratado com clembuterol.

DISCUSSÃO

O perfil de regulação metabólica da musculatura esquelética é determinado de forma multifatorial e diretamente relacionada à ação da insulina, à atividade metabólica tecidual e à atividade contrátil¹⁵. Nos músculos em repouso, a insulina promove a translocação de transportadores de glicose tipo 4 (GLUT4), desde os reservatórios túbulos-vesiculares citosólicos, para a membrana, favorecendo a elevação na captação de glicose e os processos de formação de glicogênio¹⁶.

Tendo em vista que o músculo tem menor quantidade de glicogênio por unidade de massa de tecido, mas, considerando-se que a massa do músculo é muito maior do que a do fígado, o conteúdo de glicogênio total do músculo é expressivo: cerca de duas vezes maior que o do fígado; assim, suas reservas tornam-se expressivas para a homeostase da dinâmica funcional da musculatura esquelética.

Inicialmente, avaliou-se o reservatório muscular de glicogênio de músculos normais suplementados; observou-se, na presença do CGT e do clembuterol, uma elevação do conteúdo de glicogênio, sendo esta mais relevante na presença do clembuterol. Segundo Canu *et al.*¹⁷, esta ação está ligada às propriedades glicogênicas e anabólicas moderadas que o agonista adrenérgico exerce no músculo esquelético.

A desnervação, segundo Fitton *et al.*¹², é consequência de lesão do nervo periférico e se caracteriza por atrofia muscular com aumento do tecido conjuntivo. Concomitante à secção da inervação motora ocorrem expressivas modificações funcionais e metabólicas, predispondo as fibras musculares à atrofia¹⁸.

Ao avaliar as alterações produzidas pela desnervação, tanto no músculo S, quanto no GB e no GV, observou-se uma significativa redução no

conteúdo de glicogênio (Figuras 1, 2 e 3), mostrando que as relações morfo-funcionais entre a placa motora e as vias metabólicas foram comprometidas. Este fato corrobora a afirmação de Jones *et al.*¹⁹, de que, concomitante à secção da inervação motora, ocorre redução na atividade dos sistemas pós-receptores da insulina, comprometendo a captação, o metabolismo da glicose e a sensibilidade à insulina, deflagrando-se o quadro de resistência, seguindo-se a atrofia.

Forti *et al.*²⁰ observaram, além da redução do peso muscular do sóleo, redução da síntese de glicogênio nos músculos sóleo, gastrocnêmio branco e gastrocnêmio vermelho após a secção do nervo ciático. Lin *et al.*²¹ observaram ainda uma redução da atividade da glicogênio sintetase em média de 65%, após 24 horas de desnervação.

Frente ao perfil metabólico dos músculos sóleo e gastrocnêmio desnervados, foi avaliada a ação do clenbuterol e do CGT sob os reservatórios de glicogênio. A suplementação com CGT promoveu aumento nas reservas de glicogênio, mesmo estando o músculo desnervado. Isto ocorreu, devido à maior disponibilidade plasmática de substratos metabolizáveis, tais como a creatina e aminoácidos como a taurina e a glutamina, que atuam, quer seja elevando a atividade da enzima glicogênio sintetase e favorecendo a formação destes reservatórios de glicogênio, quer seja melhorando a ação de vias metabólicas que tenham sido menos afetadas pela desnervação²².

Varnier *et al.*²³ avaliaram a infusão de glutamina após atividades de longa duração e verificaram que, concomitante à elevação na disponibilidade deste aminoácido, ocorre aumento na síntese de glicogênio, reiterando uma elevação adicional na atividade da enzima glicogênio sintetase. Neste sentido, foi observado *in vitro* que células musculares mantidas na presença de concentrações supra-fisiológicas do aminoácido, apresentavam elevação no conteúdo de glicogênio; este fato sugere ativação das vias de síntese de glicogênio, tal como observado no tecido hepático por Bowtell *et al.*²⁴. No entanto, persiste a dúvida quanto a essa ativação; pois, pode ter ocorrido uma

conversão metabólica de glutamina em glicose e, a partir daí, seu direcionamento aos reservatórios.

Segundo Deutsch *et al.*²⁵, os agonistas ligantes a adrenoceptores do tipo β são extremamente importantes enquanto recurso para contrapor à atrofia, devido à sua segurança e às suas propriedades anabólicas; entretanto, tanto as vias sinalizadoras, quanto os mecanismos pelos quais o agente β adrenérgico induz anabolismo, ainda não são totalmente conhecidos.

O clenbuterol é utilizado em várias situações clínicas: em pacientes acamados por longo período e que não toleram exercícios a curto prazo, imobilização de membros, distrofias musculares, desnervação, após cirurgias e durante reabilitações ortopédicas^{12,26}.

No tratamento com o clenbuterol, o aumento das reservas de glicogênio pode ser explicado pelo fato da substância promover o aumento da captação tecidual de glicose, possivelmente por otimizar a ação da insulina, como sugerem Pan *et al.*²⁷. Estes obtiveram evidências de que, nos músculos de contração lenta, há um *pool* de proteínas transportadoras tipo GLUT 4, cuja população inserida na membrana é afetada, tanto pelo clenbuterol, quanto pelo exercício. Estas condições aumentam a translocação das proteínas de reservatórios citosólicos em direção à membrana, favorecendo a dinâmica de absorção da hexose.

Segundo Hunt *et al.*²⁸, a possibilidade do aumento da sensibilidade da insulina no músculo esquelético após tratamento crônico com clenbuterol, talvez ocorra devido à reduzida influência da epinefrina sobre a ação da insulina como um resultado de *down-regulation* dos receptores β -adrenérgicos, sendo que em seu estudo a efetividade da epinefrina em inibir a captação de glicose estimulada pela insulina foi severamente diminuída em músculos de ratos tratados com clenbuterol. Este estudo ainda relatou que a diminuição na captação da glicose, a redução nas reservas de glicogênio e a inibição a atividade da PI3-K estimulada pela epinefrina foram antagonizadas pelo clenbuterol.

Quanto ao peso muscular do sóleo, este foi alterado somente na presença do clenbuterol,

condição que pode ser apontada como de responsabilidade de suas ações anabólicas, por reduzir a perda de proteínas e a atrofia das fibras musculares²⁵.

Verificou-se ainda que o tratamento não induziu modificações na concentração plasmática de lactato e nem alterações glicêmicas, mantendo-se em níveis normais, preservando assim a estabilidade de parâmetros importantes para a homeostasia dos sistemas.

CONCLUSÃO

Com base nos dados obtidos, pode-se concluir que as alterações metabólicas geradas pela desnervação foram reduzidas, destacando o clenbuterol, o qual mostrou maior efeito na musculatura esquelética sob condição aguda de desnervação.

REFERÊNCIAS

1. Elmendorf JS, Damrau-Abney A, Smith TR, David TS, Turinsky J. Phosphatidylinositol 3-kinase and dynamics of insulin resistance in denervated slow and fast muscles *in vivo*. *Am J Physiol* 1997; 272:661-70.
2. Coderre L, Monfar MM, Chen KS, Heydrick SJ, Kurowski TG, Ruderman NB, *et al.* Alteration in the expression of GLUT 1 and GLUT 4 protein and messenger RNA levels in denervated rat muscle. *Endocrinol* 1992; 131(4):1821-25.
3. Turinsky J, Damrau-Abney A, Loegering DJ. Blood flow and glucose uptake in denervated, insulin-resistant muscles. *Am J Physiol* 1998; 274:311-7.
4. Smith RL, Lawrence JC. Insulin action in denervated rat hemidiaphragms. *J Biol Chem* 1984; 259:2201-7.
5. Bassit RA, Sawada LA, Bacurau RF, Navarro F, Costa Rosa LF. The effect of BCAA supplementation upon the immune response of triathletes. *Med Sci Sports Exerc* 2000; 32(7):1214.
6. Walsh NP, Blannin AK, Bishop NC, Robson PJ, Gleeson M. Effect of oral glutamine supplementation on human neutrophil lipopolysaccharide-stimulated degranulation following prolonged exercise. *Int J Sport Nutr Exerc Metab* 2000; 10(1):39-50.
7. Bemben MG, Tuttle TD, Bemben DA, Knehans AW. Effects of creatine supplementation on isometric force-time curve characteristics. *Med Sci Sports Exerc* 2001; 33(11):1876-81.
8. Robinson TM, Sewell DA, Hultman E, Greenhaff PL. Role of submaximal exercise in promoting creatine and glycogen accumulation in human skeletal muscle. *J Appl Physiol* 1999; 87:598-604.
9. Huxtable, RJ. Physiological actions of taurine. *Physiol Rev* 1992; 72:101-63.
10. Costelli P, Garcia-Martinez C, Llovera M, Carbo N, Lopez-Soriano FJ, Nagell N, *et al.* Muscle protein waste in tumor-bearing rats is effectively antagonized by a beta 2-adrenergic agonist (clenbuterol). Role of the ATP-ubiquitin-dependent proteolytic pathway. *J Clin Invest* 1995; 95:2367-72.
11. Sneddon AA, Delday MI, Steven J, Maltin CA. Elevated IGF-II and phosphorylation of 4E-BP1 and p70^{S6k} in muscle showing clenbuterol-induced anabolism. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2001; 281:676-82.
12. Fitton AR, Berry MS, McGregor AD. Preservation of denervated muscle form and function by clenbuterol in a rat model of peripheral nerve injury. *J Hand Surg* 2001; 26B(4):335-46.
13. Maltin CA, Delday MI, Bailie AGS. Denervation increases clenbuterol sensitivity in muscle from young rats. *Muscle and Nerve* 1992; 14:188-92.
14. Siu LO, Russeau JC, Taylor AW. Determination of glycogen in small tissue samples. *J Appl Physiol* 1970; 28(2):234-6.
15. Zhou MIN, Sevilla L, Vallega G, Chen P, Palacin M, Zorzano A, *et al.* Insulin-dependent protein trafficking in skeletal muscle cells. *Am J Physiol* 1998; 275:187-96.

16. Lawrence JC, Roach PJ. New insights into role and mechanism of glycogen synthase activation by insulin. *Diabetes* 1997; 46:541-7.
 17. Canu M, Stevens L, Ricart-Firinga C, Picquet F, Falempin M. Effect of the beta(2)-agonist clenbuterol on the locomotor activity of rat submitted to a 14-day period of hypodynamia-hypokinesia. *Behav Brain Res* 2001; 122(1):103-12.
 18. Pereon Y, Sorrentino V, Dettbarn C, Noireaud J, Palade P. Dihydropyridine receptor and ryanodine receptor gene expression in long-term denervated rat muscle. *Biochem Biophys Res Commun* 1997; 240(3):612-27.
 19. Jones JP, Tapscott EB, Olson LA, Pessin J, Dohn GL. Regulation of glucose transporters GLUT-4 and GLUT1 gene transcription in denervated skeletal muscle. *Am J Physiol* 1998; 84(5):1661-6.
 20. Forti F, Cancelliero KM, Guirro RRJ, Silva, CA. The effect of metformin or electric stimulation on glycogen reserves in normal or denervated rat skeletal muscle. *In: Proceeding of the 3rd. Congress of Pharmaceutical Sciences; 2001 Apr, São Paulo. Amsterdams: Elsevier; 2001. p.S74 [Abstract P.9.16].*
 21. Lin Y, Brady MJ, Wolanske K, Holbert R, Ruderman NB, Yaney GC. Alterations of nPKC distribution, but not Akt/PKB activation in denervation rat soleus muscle. *Am J Physiol* 2002; 318-25.
 22. Katz J, Golden S, Wals PA. Glycogen synthesis by rat hepatocytes. *Biochem J* 1979; 180:389-402.
 23. Varnier M, Leese GP, Thompson J, Rennie MJ. Stimulatory effect of glutamine on glycogen accumulation in human skeletal muscle. *Am J Physiol* 1995; 269 (2 Pt 1):309-15.
 24. Bowtell JL, Gelly K, Jackman ML, Patel A, Simeoni M, Rennie MJ. Effect of oral glutamine on whole body carbohydrate storage during recovery from exhaustive exercise. *J Appl Physiol* 1999; 86(6):1770-7.
 25. Deutsch DAV, Abukhalaf IK, Wineski LE, Silverstrov NA, Bayorh MA, Potter DE. Changes in muscle proteins and spermidine content in response to unloading and clenbuterol treatment. *Can J Physiol Pharmacol* 2003; 81:28-39.
 26. Desaphy JF, Pierno S, De Luca A, Didonna P, Camerino DC. Different ability of clenbuterol and salbutamol to block sodium channels predicts their therapeutic use in muscle excitability disorders. *Mol Pharmacol* 2003; 63:659-70.
 27. Pan SJ, Hancock J, Ding Z, Fogt D, Lee M, Ivy JL. Effect of clenbuterol on insulin resistance in conscious obese Zucker rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2001; 280:554-61.
 28. Hunt DG, Ding Z, Ivy JL. Clenbuterol prevents epinephrine from antagonizing insulin-stimulated muscle glucose uptake. *J Appl Physiol* 2002; 92:1285-92.
- Recebido para publicação em 6 de novembro de 2003 e aceito em 12 de agosto de 2004.

