

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E DESENVOLVIMENTO NA
REGIÃO CENTRO-OESTE**

CLÁUDIA STELA DE ARAÚJO MEDEIROS GONZAGA

**TREINAMENTO DE FORÇA E DIETA HIPERPROTEICA: RESPOSTAS
METABÓLICAS E FORÇA MUSCULAR**

**CAMPO GRANDE - MS
2019**

CLÁUDIA STELA DE ARAÚJO MEDEIROS GONZAGA

**TREINAMENTO DE FORÇA E DIETA HIPERPROTEICA: RESPOSTAS
METABÓLICAS E FORÇA MUSCULAR**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste, área de concentração Respostas ao Exercício e Saúde Humana, para obtenção do título de Mestre pela Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), sob orientação do Professor Dr. Jeoser Alves de Almeida, e co-orientação da professora Dr^a Rita de Cássia Avellaneda Guimarães.

**CAMPO GRANDE - MS
2019**

CLÁUDIA STELA DE ARAÚJO MEDEIROS GONZAGA

**TREINAMENTO DE FORÇA E DIETA HIPERPROTEICA: RESPOSTAS
METABÓLICAS E FORÇA MUSCULAR**

Dissertação apresentada como requisito para obtenção do título de Mestre pelo Programa de Pós-Graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, sob orientação do Pro. Dr. Jeaser Alves de Almeida e co-orientação da Prof^a Dr^a Rita de Cássia Avellaneda Guimarães.

A banca examinadora, após avaliação do trabalho, atribuiu ao candidato o conceito

_____.

Campo Grande, de de 2019.

BANCA EXAMINADORA

CONCEITO

Jeaser Alves de Almeida – UFMS (presidente)

Christianne de Faria Coelho Ravagnani

Hugo Alexandre de Paula Santana

*Dedico esse trabalho a meus filhos, Beatriz
e Gabriel.*

AGRADECIMENTOS

Ao professor Jeaser, meu orientador. Muito obrigada pela orientação cheia de ensinamentos, correções, risadas, pressões e muito crescimento. Grata por esperar eu ir bem ali dar uma choradinha para voltarmos aos trabalhos, e por me incentivar a ir mais longe.

À professora Rita, minha co-orientadora, sempre presente nos momentos importantes e necessários.

Aos Técnicos do DTA (Camila Jordão, Marcinho, Osmar e Ullana) pelo constante apoio, socorro e carinho em todo o tempo.

À professora Maria Lígia por me conceder o privilégio de usar o laboratório para executar parte de minhas análises. À Simone, ao Caio, à Camila e demais mestrados e doutorandos presentes no Laboratório junto comigo. Obrigada por terem tornado esse tempo tão especial. Os cafés fazem falta até hoje!

À professora Elisvânia por ter me incentivado a prosseguir na carreira acadêmica.

À professora Sônia Andrade pelo incentivo e empenho em desenvolver minha escrita.

Aos professores do programa pelas aulas ministradas, que tanto me favoreceram ao longo do curso.

À professora Alinne Castro pelo zelo e dedicação com que me acolheu na UCDB.

Aos professores Christianne Ravagnani e Hugo Santana pelo pronto atendimento ao convite para comporem a banca de Defesa do Mestrado.

Aos técnicos dos laboratórios da UCDB pela presteza com que me atenderam e auxiliaram em tudo o que se fez necessário.

Ao grupo PENSARE (Pesquisa em Exercício e Nutrição na Saúde e Rendimento Esportivo) por ter oportunizado meu crescimento nos estudos e pesquisas.

Aos demais alunos de doutorado e mestrado da UCDB que foram verdadeiros parceiros e amigos para tudo quanto foi momento, sem deixar de destacar o Luccas e a Thaís, que pelo convívio mais próximo, fizeram-se família.

À Aline Inada, à Camila Jordão, à Carlinha, à Dani Arakaki e à Priscila Figueiredo, verdadeiras parceiras-amigas de eutanásias, exames, análise das dietas e da vida. Vocês foram minha família nesse período!

À Ana Paula Paiva, por ter manipulado todas as dietas comigo. Obrigada, inclusive, por ter aberto mão de finais de semana para estar comigo no Laboratório de Alimentos.

À Keemilyn, pela parceria no período do biotério e ter tornado esse tempo tão cheio de risos.

Ao Murilo, pelo companheirismo e divisão de tarefas da reta final.

Aos meus companheiros de pós-graduação que, assim como eu, matavam um leão por dia, compartilhavam as vivências e ajudavam sempre que necessário.

Aos irmãos gerados pela mesma fé em Cristo, que tanto me fortaleceram com palavras e orações. Obrigada pela cumplicidade.

À Mix Nutri pela doação de matéria-prima para produção e armazenagem da ração, além da concessão do espaço e funcionários para os testes necessários. Muito obrigada ao Guilherme e Andressa (engenheiros de alimento) pelo apoio constante, e a todos os funcionários por terem me recebido tão bem.

À Daiana e Raquel, pela amizade cheia conversas, cafés, pães e bolos. Também por me ajudarem com a rotina da casa e filhos. Vocês me oportunizaram viver o versículo bíblico dos vizinhos mais chegados que irmãos.

A todos os familiares, pelo apoio constante. Pude ver como um mestrando move uma família inteira!

Aos meus irmãos (Lila, Wilton e Flávia). Palavra alguma conseguiria dizer o valor do apoio e da presença de vocês nesse tempo. Flávia, é indescritível ter irmã parceira nas “baladas” de sextas e sábados à noite para concluir UM parágrafo!

Aos meus pais (Milton e Wilma) pelo amor incondicional, e por me incentivarem de forma tão incisiva aos estudos (“Vá já estudar, menina!!!”) e pelo colo tão presente em todo o tempo em que dele tive necessidade. Amo-os demais!

Ao Junior, por ter feito o seu melhor para me favorecer nesse empreendimento.

À Beatriz e ao Gabriel, meus filhos, minha vida fora do meu corpo. Eternamente grata por terem compreendido de forma tão maravilhosa minha ausência. Amo sem palavras...

À CAPES e ao CNPq, pelo apoio financeiro para o desenvolvimento deste trabalho.

A Deus, o autor e consumidor de minha fé em Cristo, meu Amigo mais íntimo e amor mais extravagante que conheci. A Ele gratidão pelo mestrado, pelo acréscimo de pessoas tão importantes em minha vida, e conforto nos momentos de turbulência.

RESUMO

A dieta hiperproteica (DHP) suplementada com proteínas do soro do leite (PSL) tem sido amplamente utilizada como auxiliar ergogênico no treinamento de força (TF), adjuvante no emagrecimento e melhora de parâmetros bioquímicos. No entanto, seus efeitos ainda são obscuros quando associada ao TF na massa corporal (MC), consumo alimentar (CA), metabolismo da glicose e dos lipídeos, assim como na força muscular, quando administrados por longos períodos. Por isso, o objetivo deste trabalho foi investigar o efeito da DHP com PSL, associada ao TF na MC, consumo alimentar (CA), glicemia, perfil lipídico e força muscular de ratos submetidos a doze semanas de TF. O estudo foi duplo cego, randomizado e controlado, desenvolvido com vinte e oito ratos (*Rattus norvegicus albinus, wistar*) adultos alocados em cinco grupos experimentais: Baseline (BS), normoproteico controle (NPC), normoproteico treinados (NPT), hiperproteico controle (HPC) e hiperproteico treinado (HPT). Utilizou-se dieta AIN-93M modificada, com $21,51 \pm 0,23\%$ de proteína para cada Kg de dieta manipulada. O TF foi realizado em escada vertical, composto por quatro escaladas com sobrecarga de 50%, 75%, 90% e 100% da carga de carregamento máximo (CCM) do animal. A força muscular foi avaliada nos momentos pré e pós, mediante teste incremental de CCM. A glicemia foi determinada pelo teste de tolerância à glicose e o perfil lipídico por colorimetria enzimática. A MC foi determinada semanalmente, o CA foi diário e ao final, a GV foi quantificada e o IA foi calculado. A análise estatística foi realizada por ANOVA e *post hoc* Bonferroni, e o nível de significância adotado foi $p < 0,05$. Os resultados evidenciaram que o grupo HPC apresentou maior acúmulo de gordura visceral (GV) ($p < 0,05$), os grupos treinados apresentaram menor CA e MC que os não treinados ($p < 0,05$). O fator tempo favoreceu aumento da força muscular ($p < 0,0001$). O grupo HPT menor glicemia na sexta semana ($p < 0,05$) e maior captação de glicose ao término do experimento ($p < 0,05$). HPT reduziu triglicerídeos e VLDL-c no soro ($p < 0,05$). Após as 12 semanas, grupos experimentais apresentaram maior HDL e LDL ($p < 0,0001$). Concluiu-se que TF é eficiente estratégia para o controle de peso e redução CA. Quando associado à DHP, melhora a captação de glicose, reduz nível de triglicerídeos e VLDL-c no soro. A DHP aumenta o acúmulo de GV e o fator tempo é mais importante para o aumento de força muscular que a DHP.

Palavras-chave: dieta rica em proteínas, treinamento de força, hipertrofia muscular, proteínas do soro do leite, glicemia, gordura visceral.

ABSTRACT

The high-protein diet (HPD) supplemented with whey proteins (WP) has been widely used as ergogenic aid in resistance training (RT), adjuvant in weight loss and improvement of biochemical parameters. Nevertheless, its effects are still obscure when associated with RT in body mass (BM), food intake (FI), glucose and lipid metabolism, as well as muscle strength when administered for long periods. Therefore, the objective of this work was to investigate the effect of HPD on WP, associated to RT in BM, food intake (FI), glycemia, lipid profile and muscle strength of rats submitted to twelve weeks of RT. The study was a double-blind, randomized, controlled trial, developed with twenty-eight rats (*Rattus norvegicus albinus*, wistar) adults in five experimental groups: Baseline (BS), normoproteic control (NPC), normoproteic trained (NPT), high-protein control (HPC) and high-protein trained (HPT). A modified AIN-93M diet was used, with $21.51 \pm 0.23\%$ protein for each kg of manipulated diet. The RT was performed in vertical ladder, composed of four climbs with overload of 50%, 75%, 90% and 100% of the maximum loading load (MLL) of the animal. The muscular strength was evaluated in the pre and post moments, by means of incremental test of MLL. The glycemia was determined by the glucose tolerance test and the lipid profile by enzymatic colorimetry. The BM was determined weekly, the FI was daily and at the end, the VF was quantified and the AI was calculated. Statistical analysis was performed by ANOVA and post hoc Bonferroni, and the significance level adopted was $p < 0.05$. The results showed that the HPC group presented greater accumulation of VF ($p < 0.05$), the trained groups presented lower FI and MC than the untrained ones ($p < 0.05$). The time factor favored an increase in muscle strength ($p < 0.0001$). The HPT group had lower glycemia at the sixth week ($p < 0.05$) and higher glucose uptake at the end of the experiment ($p < 0.05$). HPT reduced triglycerides and VLDL-c in serum ($p < 0.05$). After 12 weeks, experimental groups presented higher HDL and LDL ($p < 0.0001$). It was concluded that TF is efficient strategy for weight control and CA reduction. When associated with DHP improves glucose uptake, it reduces triglyceride level and VLDL-c in serum. HPD increases the accumulation of VF and the time factor is more important for the increase of muscle strength than the HPD.

Key words: high protein diet, resistance training, muscle hypertrophy, whey protein, glycemia, visceral fat.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Valor biológico e escore de aminoácidos corrigidos pela proteína digestível de proteínas consumidas usualmente	31
Tabela 2 - Diferença em gramas e porcentagem entre ingredientes componentes da dieta AIN-93M e as dietas manipuladas na UTASP/UFMS, 2017.....	69
Tabela 3 - Composição química das dietas experimentais em g. kg ⁻¹ de base seca	72
Tabela 4 - Determinação da composição dos macronutrientes e densidade energética das dietas experimentais em base seca.....	79
Tabela 5 - Resultados massa corporal e consumo alimentar determinados em diferentes momentos em 12 semanas de experimento	82
Tabela 6 - Consumo alimentar diário em gramas e macronutrientes em quilocalorias; análise realizada em base úmida; resultados evidenciados pelas medidas nutricionais, gordura visceral e índice de adiposidade	84
Tabela 7 - Resultados força máxima e força relativa ao longo das 12 semanas experimentais	86

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estrutura molecular dos α -aminoácidos	21
Figura 2 - Estrutura dos aminoácidos conforme grupo R característico em destaque.....	22
Figura 3 - Ciclo da ureia em cinco passos	26
Figura 4 - Equipamento para ultrafiltração por membrana	31
Figura 5 - Cascata metabólica para biossíntese proteica	40
Figura 6 - Espécies convencionais de animais de laboratório	45
Figura 7 - Espécies convencionais de animais de laboratório	49
Figura 8 - Espécies convencionais de animais de laboratório	50
Figura 9 - Indução a hipertrofia não-voluntária por restrição do fluxo sanguíneo para os membros inferiores	51
Figura 10 - Indução à hipertrofia dos músculos posteriores distais inferiores das pernas por estímulo elétrico	52
Figura 11 - Indução à hipertrofia dos músculos posteriores distais inferiores das pernas por estímulo elétrico	53
Figura 12 - Modelo animal pesquisa experimental em treinamento de força.....	55
Figura 13 - Treinamento de força com salto em água	56
Figura 14 - Modelo treinamento de força voluntário desenvolvido por Yarasheski et al., 1990	57
Figura 15 - Modelo voluntário de treinamento de força realizado em grade vertical	58
Figura 16 - Modelo voluntário de treinamento de força em escada vertical inclinada a 80° ...	60
Figura 17 - Delineamento experimental	64
Figura 18 - Rato em treinamento de força - modelo escalada em escada	66
Figura 19 - Confeção das dietas experimentais, segundo preconizado para roedor adulto	68
Figura 20 - Determinação da massa corporal, consumo alimentar e hídrico dos ratos ao longo de 12 semanas	74
Figura 21 - Imagens dos cinco sítios de gordura constantes na cavidade abdominal.....	76
Figura 22 - Teste de tolerância à glicose intraperitoneal realizado em três momentos experimentais	77
Figura 23 - Ingestão hídrica determinada ao longo do experimento	83
Figura 24 - Perfil lipídico	88
Figura 25 - Glicemia de jejum determinada em diferentes momentos diferentes do experimento	89

Figura 26 - Resultados dos testes de tolerância à glicose intraperitoneal realizados em diferentes momentos do experimento em ratos ingerindo dieta hiperproteica, e submetidos a treinamento de força, 2017	91
--	----

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Principais componentes e funções das proteínas do soro do leite	34
Quadro 2 - Evidências e efeitos PSL na saúde humana	35
Quadro 3 - Características das fibras do músculo esquelético	38
Quadro 4 - Modelo animal de indução à hipertrofia com estímulo não-voluntário	54
Quadro 5 - Modelo animal de indução a hipertrofia treinamento de força voluntário	61

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

4E-BP1	4E-BP1 - Proteína 1 de ligação ao fator de iniciação da tradução eucariótica
AAE	Aminoácidos essenciais
ACR	Aminoácidos de cadeia ramificada
AIN	<i>American Institute of Nutrition</i>
AIN-93M	Dieta para manutenção de roedor adulto
AkT	Proteína quinase B
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AST	Área de secção transversa
AUC	Área sob a curva
CA	Consumo alimentar
CCM	Carga de carregamento máximo
CEA	Coefficiente de eficácia alimentar
CGMCC	Coefficiente de ganho de massa por consumo calórico
DHP	Dieta hiperproteica
DM2	<i>Diabetes mellitus</i> tipo 2
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DNP	Dieta normoproteica
DRI	Ingestão dietética de referência
EA	Eficiência alimentar
eIF4G	Fator de iniciação da tradução eucariótica 4G
EROS	Espécies reativas do oxigênio
FAO	Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura
GJ	Glicemia de jejum
GV	Gordura visceral
HPC	Grupo dieta hiperproteica controle
HPT	Grupo dieta hiperproteica em treinamento de força
IA	Índice de adiposidade
IAD	Ingestão alimentar diária
IgA	Imunoglobulina A
IgE	Imunoglobulina E
IGF-1	Fator de crescimento semelhante à insulina

IgG	Imunoglobulina G
IgM	Imunoglobulina M
IL-2	Interleucina 2
IL-4	Interleucina 4
IL-7	Interleucina 7
IL-8	Interleucina 8
IL-10	Interleucina 10
LDL-c	Lipoproteína de baixa densidade
mTOR	<i>Mammalian target rapamycin</i>
NPC	Grupo dieta normoproteica controle
NPT	Grupo dieta normoproteica em treinamento de força
OMS	Organização Mundial da Saúde
P70S6K	Proteína ribossomal subunidade 6 quinase
PDCAAS	Escore de aminoácidos corrigidos pela digestibilidade da proteína
Phe	Fenilalanina
PI3k	Fosfatidilinositol - 3 - quinase
PSL	Proteína do soro do leite
RDC	Resolução da diretoria colegiada
RM	Repetição máxima
TF	Treinamento de força
TNF- α	Fator de necrose tumoral alfa
TTGI	Teste de tolerância à glicose intraperitoneal
VET	Valor energético total
VLDL-c	Lipoproteína de muito baixa densidade

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	17
2 REVISÃO DE LITERATURA	20
2.1 Proteínas: visão geral	20
2.1.1 Aminoácidos	21
2.1.2 Classificação e metabolismo dos aminoácidos	23
2.1.3 Ciclo da ureia	25
2.2 Qualidade e digestibilidade das proteínas	26
2.3 Alimentos potencialmente ergogênicos	28
2.4 Proteínas do soro do leite	30
2.5 Exercício de Força: força e hipertrofia	36
2.5.1 Progressão no treinamento de força	37
2.5.2 Princípio da especificidade	37
2.5.3 Princípio da variação ou periodização	37
2.6. Músculo esquelético e sinalização hipertrófica	38
2.7 Dieta hiperproteica, proteínas do soro do leite no treinamento de força	40
2.8 Experimentação em modelo animal	43
2.8.1 Modelo animal e exercício físico	45
3 OBJETIVOS	62
3.1 Objetivo geral	62
3.2 Objetivos específicos	62
4 MATERIAIS E MÉTODOS	63
4.1 Animais	63
4.2 Delineamento experimental	63
4.3 Familiarização ao experimento	65
4.4 Protocolo de treinamento de força	65
4.5 Dietas experimentais	66
4.5.1 Composição físico-química das dietas experimentais	70
4.6 Murinometria e medidas nutricionais	73
4.6.1 Monitoramento da massa corporal	73
4.6.2 Consumo alimentar	73
4.6.3 Eficiência alimentar	75
4.7 Eutanásia, coleta amostra sanguínea e extração de tecidos	75
4.8 Análises bioquímicas	76
4.8.1 Glicemia de jejum (GJ) e teste de tolerância a glicose intraperitoneal (TTGI)	76
4.8.2 Perfil lipídico	77
4.10 Análise estatística	78

5 RESULTADOS	79
5.1 Caracterização Físico química das dietas experimentais.....	79
5.2 Murinometria e medidas nutricionais	80
5.2.1 Massa corporal (MC).....	80
5.2.2 Consumo alimentar semanal.....	80
5.2.3 Ingestão hídrica.....	83
5.2.4 Consumo alimentar diário e eficiência alimentar	83
5.2.5 Gordura visceral e índice de adiposidade	85
5.4 Força máxima e força relativa.....	85
5.5 Parâmetros bioquímicos.....	87
5.5.1 Perfil lipídico	87
5.5.2 Glicemia de jejum.....	89
5.5.3 Parâmetro bioquímico da glicose sanguínea - TTGI.....	89
6 DISCUSSÃO	92
6.1 Massa corporal e consumo alimentar	92
6.2 Eficiência alimentar	94
6.4 - Gordura visceral e índice de adiposidade	95
6.5 Força máxima e força relativa.....	96
6.6 Parâmetros bioquímicos.....	97
6.6.1 Perfil lipídico	97
6.6.2 Glicemia de jejum.....	98
7. CONCLUSÃO.....	101
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	102
ANEXO A - CERTIFICADO DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA DE USO DE ANIMAIS DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL - UFMS	120

1 INTRODUÇÃO

As dietas hiperproteicas são parte da conduta nutricional recomendada para atletas, apontadas como ergogênicas no TF (JÄGER *et al.*, 2017; KERKSICK *et al.*, 2018; WHO, 2007), amplamente utilizadas para auxiliar no emagrecimento, controle da glicemia e melhora do perfil lipídico. A recomendação proteica é maior para indivíduos praticantes de esportes que requerem alta sobrecarga tensional, do que para outras modalidades esportivas. Visto ser necessário atender à demanda nutricional para a manutenção e preservação da saúde, promover a biossíntese proteica dos músculos esqueléticos e as demais alterações fisiológicas geradas pela quebra da homeostase orgânica (PHILLIPS, 2004; TARNOPOLSKY; MACDOUGALL; ATKINSON, 1988).

Entende-se por auxiliar ergogênico qualquer técnica de treinamento, dispositivo mecânico, ingestão de alimentos ou conduta nutricional, métodos farmacológicos ou intervenção psicológica que podem aumentar a capacidade de realizar exercícios ou melhorar a adaptação ao treinamento (KERKSICK *et al.*, 2018). Segundo essa definição, as dietas hiperproteicas e as proteínas do soro do leite (PSL) podem ser consideradas como auxiliares ergogênicos aplicados ao treinamento de força (LIMA *et al.*, 2018; NEGRO *et al.*, 2014; SCHOENFELD; ARAGON, 2018).

Uma dieta é considerada hiperproteica a partir de 1,2 g de proteína kg⁻¹ de massa corporal (MC) (TARNOPOLSKY; MACDOUGALL; ATKINSON, 1988; WHO, 2007). Contudo, esses valores continuam sendo estudados e questionados por serem consideradas as necessidades diferenciadas para atletas e idosos. Problema não encontrado para roedores de laboratório, pois o protocolo de Reeves *et al.* (1993) classifica hiperproteica a dieta composta por ~17% de proteína para cada kg⁻¹ de ração ou 19,3 kcal provindas deste macronutriente. O referido protocolo recomenda esse padrão dietético para roedores em fase de crescimento, gestação e lactação (REEVES; NIELSEN; FAHEY, 1993) e tem sido seguido como parâmetro em estudos com exercício físico (RAMOS *et al.*, 2017; SOUZA *et al.*, 2014).

A popularização desse padrão dietético tem sido respaldada com base em estudos realizados em indivíduos ou animais portadores de doenças crônicas (CARABALLO *et al.*, 2014; PORTER *et al.*, 2016), distúrbios metabólicos (KOSTOGRYS *et al.*, 2015) e extrapolados como benéficos para a todos os adultos (PHILLIPS; CHEVALIER; LEIDY, 2016). Faz-se necessário cautela quanto ao aumento do aporte proteico diário, pois há crescente número de estudos associando a ingestão contínua de dieta hiperproteica com a indução de

hiperglicemia, diabetes tipo 2 (DM2) e demais doenças relacionadas a transtorno no metabolismo dos carboidratos (PAN; SUN; BERNSTEIN, 2011; VAN NIELEN *et al.*, 2014; VIRTANEN *et al.*, 2017).

Nas áreas médicas, as dietas hiperproteicas têm se mostrado promissoras no processo de emagrecimento e melhora dos parâmetros bioquímicos (DRUMMEN *et al.*, 2018). Porém, sua inocuidade para a saúde humana ainda é questionável e carente de consistência científica. As principais questões são o desconhecimento da taxa de absorção dos aminoácidos ingeridos pela dieta no trato gastrointestinal (1,3 a 10 g/h), e a capacidade hepática em desaminar as proteínas e produzir ureia para excretar o nitrogênio excessivo (BILSBOROUGH; MANN, 2006). Além disso, também há a ausência de valores referências sobre limite máximo de ingestão diária sem risco à saúde humana (FAO, 2013; WITARD *et al.*, 2016).

As proteínas do soro do leite (PSL), associadas ou não às dietas hiperproteicas, têm se mostrado importante alimento na indução de biossíntese proteica muscular e aumento da área de secção transversa (associada ao treinamento de força), emagrecimento e melhora de parâmetros bioquímicos (CAMERA *et al.*, 2015; FEKETE *et al.*, 2018), o que justifica o crescente interesse sobre aplicabilidade e efeitos desse alimento utilizado como suplemento nutricional (DAMAS *et al.*, 2016; HUANG *et al.*, 2017). Atribui-se essa ação da PSL à sua composição nutricional, alta digestibilidade e rápida absorção (BOIRIE *et al.*, 1997; ŻEBROWSKA-GAMDZYK *et al.*, 2018).

As respostas hipertróficas e ganho de força muscular se tornaram melhor conhecidas mediante estudos realizados em modelo animal (GOLDBERG; GOLDSPINK; JABLECKI, 1975; GOLDBERG, 1968), os quais favoreceram o conhecimento das vias metabólicas e secreção hormonal em resposta à contração muscular por diferentes estímulos (ressecção muscular, estímulo elétrico, treinamento de força com estímulo elétrico ou voluntário) (BAAR; ESSER, 1999; PIROLI *et al.*, 2007; SASAKI *et al.*, 2016), tornando o uso do animal essencial para o avanço das ciências do exercício e saúde humana (RAW; MENNUCCI; KRASILCHIC, 2001; MARTINS, 2003).

Outro fator a ser considerado são as questões éticas. É vedada a participação de humanos em experimentos para o conhecimento etiológico, fisiopatológico e tratamento de doenças, assim como qualquer intervenção que ofereça risco à saúde e à vida humana (COSTA *et al.*, 2014; FAGUNDES; TAHA, 2004). Ademais, o Código de Nuremberg determina que pesquisas realizadas com humanos devem ser fundamentadas nos resultados de experimentação em animais (ALBUQUERQUE, 2013; LOPES, 2014).

Visando contribuir com o avanço no conhecimento a respeito do efeito da dieta hiperproteica, combinada ao treinamento de força, o presente estudo teve como objetivo analisar a resposta no metabolismo da glicose, composição corporal e força muscular de ratos saudáveis submetidos ao treinamento de força e ingestão de dieta hiperproteica a base de proteínas do soro do leite por doze semanas.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Proteínas: visão geral

As proteínas são nutrientes essenciais para manutenção e a sobrevivência da vida e saúde humana (TOMÉ, 2018). Foram os primeiros macronutrientes a serem reconhecidos como essenciais, por isso nominados como proteínas, palavra de origem grega (*proteios*) que significa o primeiro, o mais importante (SIZER; WHITNEY, 2003). Estão presentes em diferentes proporções nas diferentes fontes alimentares de proteínas, as quais podem ser tanto de origem animal, quanto vegetal, apresentando diversidade na composição e quantidade de aminoácidos dietéticos essenciais (TOMÉ, 2012).

A qualidade nutricional das proteínas está relacionada com a capacidade que têm os alimentos fontes de proteínas de fornecer aminoácidos e nitrogênio nas quantidades necessárias, para que as proteínas cumpram suas funções biológicas (FAO, 2013). Isso se deve ao fato de as proteínas contribuírem para o atendimento do requerimento nutricional mediante fornecimento de aminoácidos (Aa) e nitrogênio (N), os quais são convertidos em proteína corpórea e vários metabólitos intermediários, dentro do próprio organismo. Esse processo é feito segundo as necessidades metabólicas e funções requeridas em resposta a diferentes estímulos fisiológicos e moleculares (WHO, 2007). Em relação à estrutura e composição, são macromoléculas formadas por polímeros de resíduos de aminoácidos unidos entre si por ligação peptídica covalente. O termo resíduo reflete a perda de uma molécula de água quando um aminoácido é ligado ao outro; estão presentes em todas as células do organismo humano e correspondem a 20% da massa úmida do músculo esquelético (OLIVEIRA; MARQUINE, 2003). São semelhantes às gorduras e aos carboidratos, apresentando carbono, hidrogênio e oxigênio em sua estrutura molecular. No entanto, são as únicas com 16% de nitrogênio, associados ao enxofre e minerais (fósforo, ferro e cobalto) (COZZOLINO *et al.*, 2016).

As recomendações de ingestão diária indicam quantidade de consumo suficiente para atender ao requerimento necessário para a manutenção do organismo de indivíduos saudáveis (WHO, 2007). Porém, é relevante salientar que a deficiência energética induz ao desvio das funções plásticas e reparadoras para o fornecimento de energia (TOMÉ, 2018), e a necessidade de ingestão diária é vinculada não somente ao suprimento energético, mas também às condições fisiológicas individuais.

A realização de exercício físico é um bom exemplo de alteração da necessidade proteica diária. Pois, nesse caso, o aumento do aporte proteico para atender funções orgânicas é

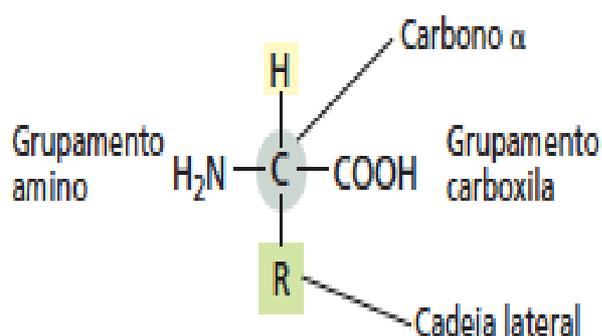
dependente não apenas do suprimento da necessidade de energia aumentada, como também é vinculada ao tipo de exercício, a intensidade do treinamento, além do gênero, idade e conteúdo de glicogênio em estoque (TIRAPEGUI; ROGERO, 2007).

2.1.1 Aminoácidos

Os aminoácidos são as unidades estruturais básicas de todas as proteínas e principal fonte de nitrogênio precursor de outras moléculas que contém nitrogênio, incluindo síntese de novo (ressíntese) de Aas dispensáveis (não essenciais), hormônios, neurotransmissores e metabólitos especializados (glutamato, serotonina, DNA, RNA, entre outros) (BRÖER; BRÖER, 2017; TOMÉ, 2018).

Embora tenham sido encontrados cerca de 300 aminoácidos, todos com funções próprias, apenas 20 sintetizam proteínas e são codificados diretamente no DNA de um organismo (NELSON; COX, 2014). Apesar de apresentarem a mesma estrutura básica: um grupo carboxílico, um grupo amino, um átomo de hidrogênio e o grupo lateral (grupo R) ligados ao mesmo carbono (carbono α), as funções são diferentes e determinadas pelo grupo R, conforme apresentado na figura 1 (ALBERTS *et al.*, 2017).

Figura 1 - Estrutura molecular dos α -aminoácidos

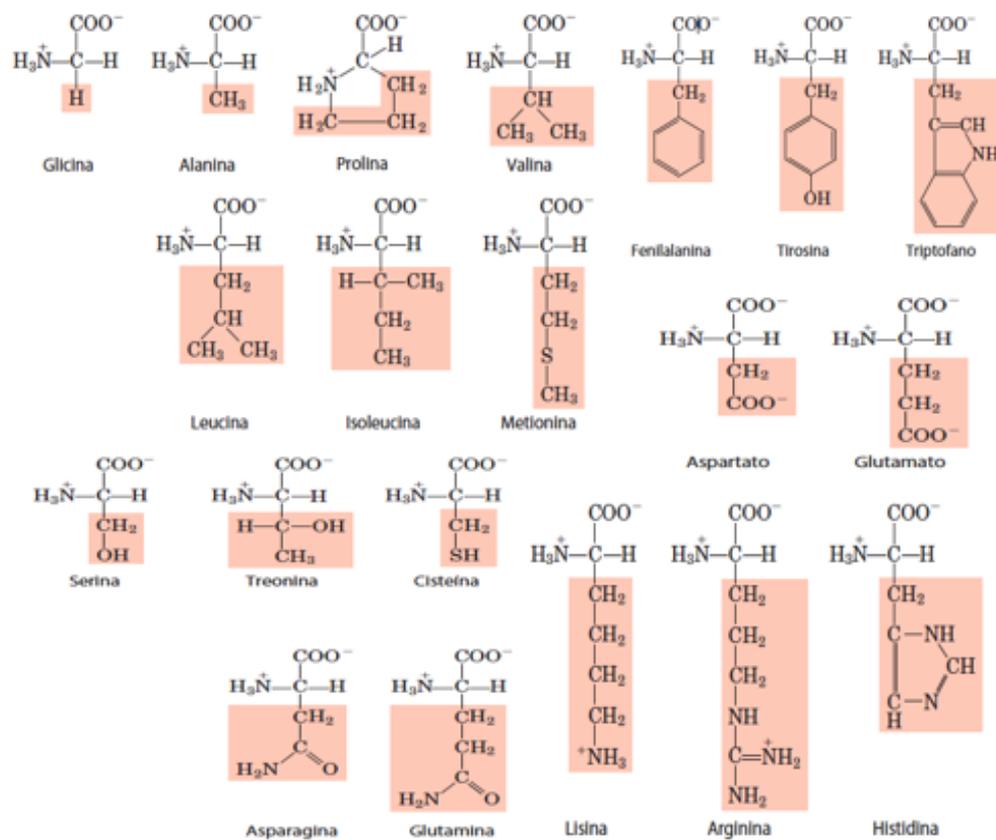


Nota: Figura ilustrativa com grupos ligados ao α -carbono não ionizados. COOH - grupo carbonila. H - átomo de hidrogênio. H_2N - grupo amino e R - grupo lateral.

Fonte: Alberts *et al.*, 2017.

Cada α -aminoácido - assim denominados os que são incorporados na estrutura proteica de mamíferos - apresenta grupo R característico, o qual é o principal diferenciador entre os α -aminoácidos e determinante da diversidade e complexidade das funções proteicas. Nesse sentido, cada grupo apresenta propriedades físico-químicas específicas, conferindo aos Aas a classificação segundo a polaridade ou solubilidade em água no pH biológico, conforme estrutura molecular apresentada na figura 2 (NELSON; COX, 2014; TIRAPEGUI; ROGERO, 2007).

Figura 2 - Estrutura dos aminoácidos conforme grupo R característico em destaque



Nota: Os aminoácidos estão representados na forma ionizada em pH 7. Grupo R apolar alifático e hidrofóbico: glicina, alanina, prolina, valina, leucina, isoleucina e metionina. Grupo R aromático e relativamente hidrofóbico: fenilalanina, tirosina e triptofano (a fenilalanina é menos polar que seus pares). Grupo R polar não carregado: serina, tirosina, cisteína, asparagina e glutamina (mais hidrofílicos que os apolares). Grupos R polar carregado positivamente: aspartato e glutamato. Grupos R polar carregado positivamente: lisina, arginina e histidina.

Fonte: adaptado de Nelson; Cox (2014).

A homeostase sistêmica de aminoácidos é fortemente regulada pela disponibilidade de energia e Aas para a manutenção da síntese e degradação de proteínas, resultando em níveis plasmáticos constantes (WHO, 2007), o que propicia a síntese de proteína e metabolismo dos aminoácidos pelo contínuo *turnover* proteico (TOMÉ, 2018).

O *turnover* é a constante da velocidade de síntese ou ressíntese de substratos mediante ação catalítica enzimática (ALBERTS *et al.*, 2017). Em relação às proteínas, o *turnover* refere-se ao estado contínuo de síntese e degradação de proteínas, que mantém o *pool* de aminoácidos capaz de satisfazer a demanda metabólica de Aas nas várias células e tecidos do organismo, bem como a síntese de novas proteínas, segundo a função requerida (TOMÉ, 2018; WHO, 2007). Convém destacar que o *turnover* proteico apresenta velocidades diferentes dentro dos tecidos e células (TIRAPEGUI; ROGERO, 2007).

O tecido muscular esquelético contém maior quantidade das proteínas do corpo (aproximadamente 50%); porém, seu *turnover* é menor (25% do *turnover* proteico) que o apresentado pelo fígado e intestino (*turnover* de 50%), e os dois órgãos juntos respondem a menos de 10% da proteína corpórea (OLIVEIRA; MARCHINI, 1998; TIRAPEGUI; ROGERO, 2007).

2.1.2 Classificação e metabolismo dos aminoácidos

Os aminoácidos podem ser classificados quanto a sua polaridade, função e aspecto nutricional. Aqui será abordada a classificação nutricional, a qual os distingue em aminoácidos essenciais (indispensáveis) e não essenciais (dispensáveis) (FAO, 2013). Os indispensáveis são compostos pelos nove aminoácidos que o organismo não pode sintetizar seus esqueletos de carbono, por isso necessitam ser ingeridos pela dieta diariamente (leucina, isoleucina, valina, triptofano, metionina, fenilalanina, treonina, histidina e lisina) (MARCHINI, 1992; WHO, 2007). Enquanto os dispensáveis são divididos em dois grupos: verdadeiramente dispensáveis e condicionalmente dispensáveis (WHO, 2007).

Os aminoácidos verdadeiramente dispensáveis (alanina, ácido aspártico, ácido glutâmico, asparagina e serina) e os condicionalmente dispensáveis (arginina, cisteína, glutamina, glicina, prolina e tirosina) são tão importantes na estrutura proteica quanto os indispensáveis (TIRAPEGUI, ROGERO, 2007). No entanto, em situação de deficiência, podem ser sintetizados no organismo a partir de outros aminoácidos ou de metabólitos nitrogenados. Porém, os condicionalmente essenciais podem se tornar essenciais em condições fisiológicas específicas (doenças e exercício físico) (NELSON; COX, 2014).

Após absorção, os aminoácidos são transportados pela circulação entero-hepática para o fígado - órgão chave na modulação das concentrações plasmáticas dos aminoácidos - liberando aproximadamente 20% destes para a circulação sistêmica; cerca de 50% são

transformados em ureia e 6% em proteína plasmática (IOM, 2002; OLIVEIRA; SANTOS; WILSON, 1998). Ele regula a degradação dos aminoácidos essenciais, exceto os aminoácidos de cadeia ramificada (leucina, isoleucina e valina), os quais são metabolizados principalmente pelos músculos esqueléticos e rins (OLIVEIRA; MARCHINI, 2003).

O primeiro passo no catabolismo dos aminoácidos consiste na remoção do grupo α -amino de um aminoácido (transaminação) para um α -cetogluturato, resultando em α -cetoácido e glutamato (DEVLIN, 2007). Desta forma, o α -cetogluturato é o aceptor dos grupos amino de outros aminoácidos e sintetiza glutamato como reservatório temporário do grupo amino, e subsequente doador de grupo amino para síntese posterior de aminoácidos dispensáveis. As reações são catalisadas pelas enzimas pertencentes à família das transaminases, as quais são dependentes da piridoxal-fosfato (vitamina B6) como coenzima (COOPER *et al.*, 1988; KASIM-KARAKAS; ALMARIO; CUNNINGHAM, 2009).

Os aminoácidos leucina e lisina são degradados para acetil-CoA ou acetoacetil-CoA, originando corpos cetônicos. Por isso, são chamados aminoácidos cetogênicos (NELSON; COX, 2014). Enquanto os aminoácidos degradados a piruvato, oxaloacetato, α -cetogluturato, fumarato ou succinil-CoA são chamados de glicogênicos (alanina, arginina, glutamina, histidina, asparagina, aspartato, glutamato, glicina, prolina, cisteína, metionina, treonina, valina e serina), bem como os aminoácidos: tirosina, fenilalanina, isoleucina e triptofano, que podem produzir tanto glicose (glicogênicos) como corpos cetônicos (cetogênicos) (DEVLIN, 2007; IOM, 2002). A remoção do nitrogênio dos aminoácidos e subsequente conversão de ureia, ácido úrico amônia e creatina, os quais são as formas excretadas pelos rins, pode ser realizada pelo processo de transaminação e deaminação (desaminação) (IOM, 2002).

A transaminação consiste na retirada do grupo amino ($-\text{NH}_3^+$) dos aminoácidos pelas aminotransferases, resultando na formação de glutamato e de α -cetoácido correspondente. O $-\text{NH}_3^+$ é transferido para um α -cetogluturato (esqueleto de carbono) e convergido em outros produtos: piruvato, acetil-CoA, acetoacetil-CoA; oxaloacetato, α -cetogluturato, fumarato e succinil-CoA (TIRAPEGUI; ROGERO, 2007). Estas substâncias entram nas vias metabólicas intermediárias resultando em glicose ou lipídeos, ou produção de energia pela oxidação completa no ciclo do ácido cítrico (CAC) (PHILLIPS, 2004).

A deaminação (desaminação) resulta na formação de amônia livre e α -cetoácido correspondente (KARACA *et al.*, 2018). Pode ser direta (histidina), por desidratação (serina e treonina), pelo ciclo da purina nucleotídeo (aspartato) ou por deaminação oxidativa (glutamato). Os dois últimos processos são importantes por formarem os aminoácidos receptores de

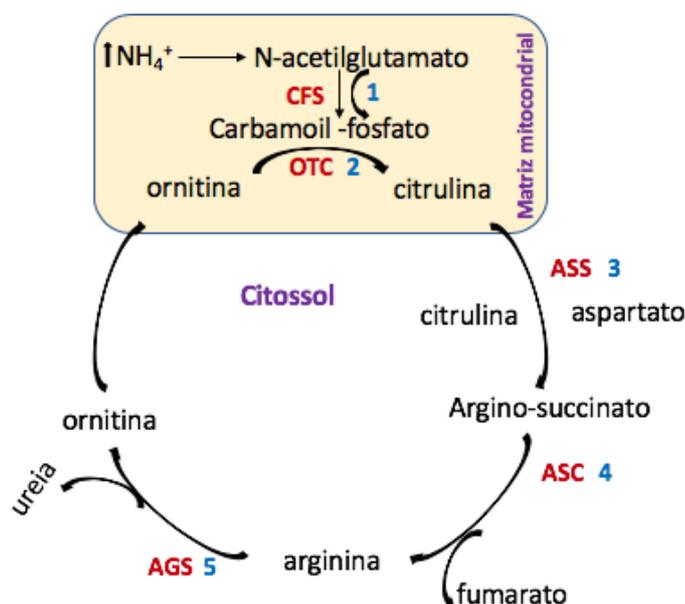
nitrogênio pela transaminação de outros aminoácidos. Assim o grupo amino de qualquer aminoácido pode ser canalizado para os precursores de ureia: amônia e aspartato (IOM, 2002).

2.1.3 Ciclo da ureia

A síntese da ureia (ciclo da ureia) é a principal forma de eliminação de nitrogênio derivado dos aminoácidos dietéticos ou endógenos. Ocorre no fígado pela via cíclica conhecida como ciclo da ureia, que possui como principal reação a hidrólise da arginina pela arginase, e consequente produção de ureia e ornitina (COZZOLINO *et al.*, 2014). A ureia é eliminada pelos rins e a ornitina é regenerada na última etapa do ciclo da ureia retornando à mitocôndria (COOPER *et al.*, 1988)

A dieta hiperproteica aumenta concentração no plasma de aminoácidos e a produção do composto N-acetilglutamato (regulador alostérico), fornecendo o sinal para aumentar a síntese de ureia mediante ativação da carbamoil-fostato-sintetase-1 (NELSON; COX, 2014)). Então, o grupo carbamoil é transferido do fosfato de carbamoil para o aminoácido ornitina, formando o aminoácido citrulina – reação que ocorre na mitocôndria catalisada pela ornitina-transcarbamoilase. A citrulina, no citossol, é condensada com o aspartato pela arginino-succinato-sintetase produzindo arginino-succinato, o qual é catalisado pela arginino-succinase, produzindo fumarato e arginina, que pela ação da arginase forma ureia e ornitina completando o ciclo da ureia (Figura 3).

Figura 3 - Ciclo da ureia em cinco passos



Nota: Elevada concentração de amônio (NH_4^+) aumenta a produção N-acetilglutamato, que ativa a enzima carbamoil-fosfato sintetase (CFS) produzindo carbamoil-fosfato, etapa 1. A ornitina-transcarbamoilase (OTC) transfere os grupos fosfato para a citrulina, etapa 2. A citrulina é condensada com aspartato pela arginino-succinase-sintetase (ASS), etapa 3. A arginino-succinase produz fumarato e arginina, etapa 4. A arginase produz ureia e ornitina fechando o ciclo da ureia, etapa 5.

Fonte: adaptado de Nelson; Cox, 2014.

2.2 Qualidade e digestibilidade das proteínas

Para a prescrição de dietas, é necessário seguir as recomendações nutricionais fundamentadas no conhecimento do balanço e metabolismo dos nutrientes em diferentes faixas etárias, considerando as necessidades e biodisponibilidade de cada nutriente, além de desenvolvimento segundo às necessidades populacionais (ILSI, 2012).

Quanto ao atendimento da necessidade proteica, a prescrição dietética deve considerar o perfil dos aminoácidos, a quantidade total de nitrogênio e a digestibilidade dos alimentos como fonte de proteínas (SARWAR, 1997). Concernente ao valor nutricional destas, sua composição aminoacídica é considerada o elemento mais importante (ILSI, 2012).

As proteínas com bom perfil de aminoácidos são as que apresentam, em sua estrutura molecular, os vinte aminoácidos biologicamente ativos e codificados para a síntese de proteínas. Destacam-se os aminoácidos essenciais que, por efeito da incapacidade do organismo humano em sintetizar seus esqueletos de carbono, precisam ser ingeridos pela dieta (MARCHINI, 1992).

A ausência ou deficiência de um ou mais aminoácidos no alimento, denominados aminoácido (s) limitante (s) (MARCHINI *et al.*, 1994), está associado ao balanço nitrogenado negativo e, conseqüentemente, a sintomas clínicos, a exemplo da anemia, perda de massa corporal e edema (HARPER; BENEVENGA; WOHLHUETER, 1970; MARCHINI, 1992).

O nitrogênio (N) é o elemento químico que diferencia a estrutura molecular da proteína dos demais macronutrientes. Sua presença é essencial para o metabolismo dos aminoácidos e síntese proteica (ALDINA; RODRIGUES, 2003). Motivo pelo qual a Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura e a Organização Mundial da Saúde (FAO/OMS) considera o cômputo de N para avaliação da qualidade proteica da dieta ou do alimento fonte de proteína (FAO/WHO, 1991).

A digestibilidade real é um indicador da qualidade nutricional do alimento fonte de proteína. Reflete a quantidade de proteínas que foram digeridas e absorvidas na forma de aminoácidos ou outro composto nitrogenado (HIANE *et al.*, 2006). A ausência da hidrólise dos peptídeos ao longo do processo digestivo resulta em excreção proteica pelas fezes ou produção de metabólitos por micro-organismos no intestino grosso (PIRES *et al.*, 2006). Ao passo que a qualidade proteica refere-se à presença dos aminoácidos essenciais em quantidades maiores que as apresentadas pela proteína adotada como referência, que é a recomendação para pré-escolar de entre 1 e 3 anos (FAO, 1985).

A FAO/OMS (1991), considerando a digestibilidade real associada à composição de aminoácidos (qualidade proteica) dados suficientes para caracterizar o valor nutricional de um alimento fonte de proteína, recomendou o uso do método de digestibilidade corrigido pelo escore de aminoácidos (PDCAAS) como padrão oficial para caracterizar o valor nutricional de um alimento fonte de proteína (equação 1). Outra recomendação é determinar a digestibilidade real pelo método de balanço nitrogenado em ratos.

$$PDCAAS = \frac{AAE \text{ Ptn } A}{AAE R} = \text{escore aminoacídico da proteína} \quad (1)$$

Onde:

PDCAAS – digestibilidade corrigida pelo escore químico de aminoácidos;

AAE Ptn A – menor quantidade de cada aminoácido essencial que compõe a proteína a ser avaliada;

AAE R – valor de aminoácidos essenciais recomendados para crianças em idade pré-escolar de 1 a 3 anos.

Observação: Escore abaixo de 1 indica presença de aminoácido limitante.

Após o conhecimento do escore aminoacídico e da digestibilidade real, deve-se multiplicar o valor da digestibilidade real pelo valor do escore aminoacídico para ajustar a quantidade de proteína que realmente será aproveitada pelo organismo. O valor de 100% ou 1 indica que a proteína será totalmente aproveitada (FAO/OMS, 1991).

2.3 Alimentos potencialmente ergogênicos

O uso de alimentos e estratégias nutricionais, com a finalidade de potencializar as respostas do atleta ao treinamento esportivo (KREIDER *et al.*, 2010), promoveram avanços no conhecimento sobre os suplementos nutricionais potencialmente ergogênicos. Isso também se deu na forma de ação de tais alimentos na alteração da composição corporal, rendimento esportivo e saúde de atletas ou praticantes de exercícios físicos (ALAUNYTE *et al.*, 2015; ARETA *et al.*, 2013; KERKSICK *et al.*, 2018).

Os suplementos nutricionais proteicos: caseína, proteínas do soro do leite e a proteína isolada de soja, são as que apresentam maior volume de estudos. Os resultados têm evidenciado que as proteínas geram mudanças agudas na síntese de proteína muscular, tanto em repouso quanto em resposta ao TF (TANG *et al.*, 2009; KERKSICK *et al.*, 2018). Por outro lado, as respostas da suplementação a longo prazo apresentam mudanças menos intensas, e o aumento significativo da massa livre de gordura foi associada ao treinamento de força (KERKSICK, C *et al.*, 2018; KREIDER, 1999; STANSTRUP *et al.*, 2017).

A comercialização dos suplementos proteicos e aminoácidos cresceu em todo o mundo de forma exponencial e sem a devida comprovação de eficácia em seus efeitos ou segurança para a saúde humana (KREIDER *et al.*, 2010). Para contornar este problema, diferentes países regulamentaram por força de lei a produção, desenvolvimento e comercialização destes produtos alimentares (KERKSINSK *et al.*, 2018) e a *International Society of Sports Nutrition* - ISSN (2018) recomenda aos profissionais da área de saúde a prescrição de suplementos nutricionais devidamente aprovados pelos regulamentos vigentes.

A atual recomendação sobre suplementos nutricionais no esporte, publicada pela ISSN (2018), traz a importância da padronização dos conceitos e termos aplicados aos alimentos destinados à melhora do rendimento no esporte, a fim de favorecer o entendimento e utilização dos resultados de pesquisas, independentemente do local onde o profissional se encontra (KERKSICK *et al.*, 2018), tornando essencial o conhecimento dos componentes dos

suplementos acessíveis, as formas de apresentação e porções recomendadas para a utilização de modo consciente e seguro para o indivíduo.

O Brasil e os Estados Unidos possuem normatização própria para produção e comercialização dos suplementos nutricionais destinados à melhora do rendimento esportivo, atendendo recente recomendação da ISSN (DSHEA, 1994; BRASIL, 2010).

Nos Estados Unidos, os suplementos nutricionais são classificados como alimentos “especiais” pela Lei *Dietary Supplement Health and Education* – DSHE (Suplemento Dietético de Saúde e Educação), aprovada em 1994. Precisam conter em sua formulação um “ingrediente dietético”, que podem ser as vitaminas, minerais, ervas ou outros vegetais, aminoácidos e substâncias, como as enzimas, tecidos de órgãos e extratos glandulares, metabólicos ou concentrados dessas substâncias. São a única forma aprovada para a comercialização desses suplementos e para a ingestão via oral (DSHEA, 1994).

No Brasil, os suplementos nutricionais são alimentos regulamentados pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Em julho do corrente ano, os suplementos nutricionais foram inseridos numa composição de seis normas (RDC 239/2018, RDC 240/2018, RDC 241/2018, RDC 242/2018, RDC 243/2018 e a Instrução Normativa 28/2018) que visa assegurar o desenvolvimento, produção e comercialização de produtos compostos por nutrientes e não nutrientes, em quantidades e associações de substâncias seguras à saúde pública brasileira (ANVISA, 2018).

Estas alterações nas normatizações diferenciaram os suplementos nutricionais compostos por vitaminas, minerais e aminoácidos dos medicamentos, a partir da concentração desses nutrientes na fórmula, e determinaram a forma de comercialização e a prescrição. Assim, parte dos suplementos nutricionais estudados no mundo como potencial ergogênico encontram-se classificados como Suplemento Alimentar para Atletas, e regulamentados pela RDC 18/2010. Outra parte como medicamento ou não tem legalização para comercialização em território nacional. É vedada a inserção de ervas, fibras ou qualquer outro nutriente ou alimento, diferente de vitaminas e minerais a estes produtos alimentares, os quais só podem ser comercializados para ingestão oral.

Tanto nos Estados Unidos quanto no Brasil, as regulamentações a respeito dos suplementos são respostas às crescentes críticas às indústrias quanto a produção e comercialização de tais produtos de forma fantasiosa ou sem confirmação de inocuidade à saúde humana.

2.4 Proteínas do soro do leite

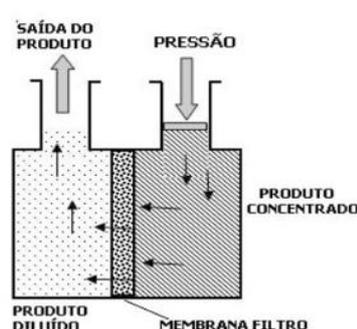
O soro do leite foi produzido pela primeira vez há mais de 5000 anos atrás, por um acaso e, desde então, seu consumo e valor pelo homem tem sido apresentado de diferentes formas (SMITHERS, 2015). Nos séculos XVII, XVIII e início do século XIX, o soro do leite foi uma bebida popular, consumida por suas propriedades medicinais e até mesmo como alternativa de água para o banho (SMITHERS, 2015; SMITHERS *et al.*, 1996)

No século XX, com a mudança de hábitos do homem e expansão de produção de produtos lácteos, o volume residual de soro aumentou e seu descarte passou a ser feito nos mares, rios e esgotos, provocando extenso dano ao meio ambiente e saúde da população pela fermentação e putrefação dos compostos orgânicos característicos desse resíduo alimentar (HARAGUCHI; ABREU; PAULA, 2006). Para conter e reverter o dano ambiental, as jurisdições regulamentaram o processo de descarte do soro onerando a eliminação dos resíduos dos laticínios mediante pesadas taxas (MAWSON, 1994; SPALATELU, 2012).

A fim de minimizar os prejuízos com o descarte do soro do leite, as indústrias desenvolveram tecnologias de processamento para aproveitar esse resíduo mediante criação novos produtos alimentícios, dentro os quais se destaca o isolado proteico do soro do leite (SMITHERS *et al.*, 1996). Paralelamente, houve crescente corpo de evidências sobre o valor nutricional e potencial terapêutico do isolado proteico do soro, o que alavancou a comercialização desse produto e sucessivos avanços tecnológicos para aperfeiçoar a extração dessas proteínas (SMITHERS, 2015).

Para separação das proteínas solúveis do soro, desde 1981, o processo de ultrafiltração tem sido a técnica mais utilizada (BALDASSO, 2008). Este processo tecnológico consiste de filtração mediante barreira semi-seletiva (membranas) capaz de separar o alimento em duas fases (concentrado e permeado), e restringir o transporte de elementos químicos constantes nas fases separadas (AIRES, 2010; BALDASSO, 2008). Na ultrafiltração, a força motriz é o gradiente de pressão empregado para reter as macromoléculas (proteínas) nas membranas, enquanto as moléculas menores atravessam livremente (Figura 4). A concentração proteica (25% a 90%) retida na membrana é determinada pelos diâmetros dos poros. Para ser considerado isolado, a concentração precisa ser superior a 90%. (BALDASSO, 2008; BORGES *et al.*, 2001; BOSCHI, 2006).

Figura 4 - Equipamento para ultrafiltração por membrana



Fonte: Vaportec- Tecnologia industrial

As múltiplas funcionalidades da PSL tornaram-na um dos alimentos mais estudados na nutrição esportiva, áreas médicas e tecnologia de alimentos (KINSELLA; WHITEHEAD, 1989; SMITHERS, 2015). São popularmente denominadas pelo termo em inglês *whey protein*, possuem alto valor biológico e maior digestibilidade que a caseína, os ovos e as carnes. Seu Escore de Aminoácidos Corrigido pela Proteína Digestível (*Protein Digestibility Corrected Amino Acid Score – PDCAAS*) apresenta pontuação 1, valor máximo para digestibilidade de alimento fonte de proteína, tabela 1 (SMITHERS, 2015).

Tabela 1 - Valor biológico e escore de aminoácidos corrigidos pela proteína digestível de proteínas consumidas usualmente

Alimentos	Valor Biológico ^A	PDCAAS ^B
Leite	91	1,0
Caseína	77	1,0
PSL	104	1,0
Ovos	100	1,0
Carnes	80	0,92
Proteína de soja	74	1,0

Nota: adaptado de Smithers (2015). A) medida de qualidade da proteína baseada na proporção de proteína absorvida e incorporada no indivíduo. Indica a facilidade com que os aminoácidos das proteínas digeridas podem ser usados para a síntese de proteínas nas células do organismo. B) Medida de qualidade da proteína com base nos requisitos dos aminoácidos dos seres humanos e sua capacidade de digerir a proteína. PDCAAS – escore de aminoácidos corrigidos pela proteína digestível

São definidas como grupo de proteínas solúveis no soro do leite após a precipitação ácida ou enzimática da caseína (YALCIN, 2006). Para obtenção dos “coalhos” proteicos, a caseína é coagulada mediante reação enzimática em temperatura ideal (32°C a 35°C). Esse

processamento é o único que possibilita a formação κ -caseína (SGARBIERI, 2004), como sacietógena, aumentar absorção dos minerais e ação protetiva contra doenças intestinais (DAVOODI *et al.*, 2016; HARAGUCHI; ABREU; PAULA, 2006). Durante o processamento do queijo, as enzimas coagulantes hidrolisam as ligações peptídicas entre os aminoácidos Phe₁₀₅ - Met₁₀₆ (fenilalanina e metionina, respectivamente) formando os peptídeos κ -caseína (hidrofílico) e glicomacropéptídeo (hidrofóbico), os quais possuem estrutura molecular passível de ação funcional (BRASIL; NICOLAU; CABRAL, 2015; PAULA; CARVALHO; FURTADO, 2009)

A temperatura e o procedimento adotado para o coágulo da caseína influenciam diretamente na funcionalidade e valor nutricional das PSL (PAULA; CARVALHO; FURTADO, 2009), tanto pela composição proteica quanto pela possibilidade de desnaturação em temperaturas próximas a 40° C. Isto ocorre porque a sequência de aminoácidos é fator determinante para a função da proteína, e a alteração da estrutura molecular inativa a função desta macromolécula (BUGGY *et al.*, 2018; HAQUE *et al.*, 2013; TOMÉ, 2012).

Em relação à quantidade de proteínas, as PSL contêm cerca de 20% do total de proteínas componentes do leite, tais como as β -globulinas, α -lactoalbumina, imunoglobulinas, lactoferrina, lactoperoxidase, glicomacropéptídeo, albuminas do soro bovino, entre outras (HARAGUCHI; ABREU; PAULA, 2006), as quais apresentam funções terapêuticas (Quadro 1). Ademais, esses peptídeos são compostos por elevada concentração de aminoácidos de cadeia ramificadas (ACR) (leucina, lisina e valina), os quais são considerados como indutores de crescimento de tecidos (MARTINS *et al.*, 2017).

As β -globulinas são os peptídeos mais abundantes no soro, possuem elevada quantidade de aminoácidos essenciais em sua estrutura molecular, principalmente os ACR, além da proteína ligante ao retinol (PATEL, 2015). Possui função transportadora de pequenas moléculas hidrofóbicas, ácido retinoico e potencial modular de respostas linfáticas (SOUSA *et al.*, 2012).

As α -lactoalbuminas correspondem a 20-25% das proteínas no soro do leite, são compostas por ampla variedade de aminoácidos, sua estrutura é a mais semelhante à do leite materno (SGARBIERI, 2004).

Os aminoácidos formadores da α -lactoalbumina estão dispostos em quantidade e sequência prontas para inserção em fórmulas de alimentos infantis (MARSHALL, 2004). Estudos em modelo animal mostraram que a α -lactoalbumina aumentaram produção de anticorpos em resposta a estímulo antigênico (*Micobacterium bovis*) inoculados intraperitonealmente, ação direta na função dos linfócitos B (BOUNOUS *et al.*, 1983). Segundo

Sgarbieri (2004), a PSL pode estimular o sistema, que é estimulado mediante aumento de síntese de imunoglobulinas. A β -globulina e a IgG contêm em sua estrutura o tripeptídeo glutamilsteína (glutamato-glicina-cisteína). Esse tripeptídeo, caso mantenha sua integridade estrutural após hidrólise digestiva e posterior absorção, é capaz de estimular a síntese de imunoglobulinas (PACHECO *et al.*, 2005).

Por serem peptídeos resultantes de processo enzimático, as PSL são resistentes às enzimas estomacais, não coagulam em meio ácido e (PATEL, 2015) e são rapidamente digeridas e liberadas para absorção no intestino delgado (MORATO *et al.*, 2013). Atribui-se à velocidade de digestão e absorção fatores fisiológicos, responsáveis pela rápida elevação plasmática de aminoácidos essenciais, que é uma característica da PSL. Esse processo desencadeia sucessivas respostas fisiológicas e metabólicas e potencializa efeito desses nutrientes (REIDY; RASMUSSEN, 2016) apresentados na ativação das vias metabólicas para biossíntese proteica (CHURCHWARD-VENNE; BURD; PHILLIPS, 2012), emagrecimento (ARCIERO *et al.*, 2014) e melhora dos parâmetros bioquímicos (DAVOODI *et al.*, 2016).

É importante ressaltar que os peptídeos com ação funcional são produzidos durante a digestão, possuem capacidade de retransmitir sua ação ao se ligarem aos receptores específicos no lúmen intestinal antes da absorção, ou em órgãos alvos após a absorção (JAKUBOWICZ; FROY, 2013). Estas características associadas à composição proteica e aminoacídica, à concentração de vitaminas e minerais favorecem o desempenho de funções que diferenciam a PSL de outras proteínas. Dentre tais funções, pode-se citar as de maior absorção de minerais (cálcio e zinco), aumento biossíntese proteica, sensibilidade aos hormônios, redução da glicemia e melhora do perfil lipídico (LUHOVYY; AKHAVAN; ANDERSON, 2007; SOUSA *et al.*, 2012), quadro 2.

Quadro 1 - Principais componentes e funções das proteínas do soro do leite

Proteínas	Autor/Ano	Especificidades	Componentes e funções
β -lactoglobulina (45% – 57%)	Patel, 2015. Sgarbieri, 2004.	- Alimento com maior concentração de ACR (~25%)	- Transporte pequenas moléculas higroscópicas. - Redução absorção intestinal de lipídeos.
α -lactoalbumina (15% - 25%)	Haragushi; Abreu; Paula, 2006. Borges <i>et al.</i> , 2001.	- Maior teor de triptofano; - Segundo maior componente no soro bovino e o primeiro no leite materno.	- Maior concentração de triptofano (~6%) entre todas as proteínas. - Capacidade de ligação com zinco e cálcio, aumentando a absorção.
Imunoglobulina (10 – 15%)	Mignone <i>et al.</i> , 2015. Sgarbieri, 2004.	- IgG, IgA, IgM e IgE.	- Atua como antioxidante e aumenta imunidade
Lactoferrina (~1%)	Sousa <i>et al.</i> , 2012. Haragushi; Abreu; Paula, 2006. Mignone <i>et al.</i> , 2015. Davoodi <i>et al.</i> , 2016.	- Glicoproteína ligada ao íon ferro encontrada no leite materno. - Proteína globular com múltiplas funções benéficas à saúde humana.	- Inibe produção de citocinas pró-inflamatórias. - Inibe contra desenvolvimento de hepatites.
Glicomacropéptido (10% – 15%)	Sagarbieri, 2004. Luhovvy; Akhavan; Anderson, 2007	- Formados por coágulo enzimático em temperatura de 32 a 35°C.	- Aumenta absorção de minerais. - Aumenta a saciedade.

Nota: ACR – aminoácidos de cadeia ramificada. Ig.G – imunoglobulina G; IgA – imunoglobulina ; IgM – imunoglobulina M e IgE – Imunoglobulina E.

Quadro 2 - Evidências e efeitos PSL na saúde humana

Ingestão proteína do soro do leite		
Benefícios	Autor/Ano	Causas e Efeitos
Hipotensor	Pal; Ellis, 2010.	- Peptídeos provenientes β -lactoglobulina ação anti-hipertensiva.
Hipoglicemiante	Jakubowicz <i>et al.</i> , 2014. Pal; Ellis; Dhaliwal, 2010.	- Aumento Insulina: leucina, isoleucina, valina, lisina e treonina; - Cisteína: regula sinais dependentes de insulina metabolismo e glicose.
Proteção contra câncer	Sousa <i>et al.</i> , 2012. Marshal, 2004. Patel, 2015.	- PSL isolada – efeito citotóxico melanoma B16F10 - Câncer de cólon – modulação do bioma intestinal, produção mucina, presença lactoferrina.
Emagrecimento	Jakubowicz; Froy, 2013. Westerterp- Platenga <i>et al.</i> , 2009.	- α -lactoalbumina, lactoferrina; - Redução lipogênese por mecanismos pouco esclarecidos.
Aumento saciedade	Pacheco, <i>et al.</i> , 2005. Giezeenar <i>et al.</i> , 2018.	Glicomacropéptídeos aumentam saciedade
Imunidade	Patel, 2015.	Redução citocinas inflamatórias (IL- α , IL- β , IL-10, TNF- α . Aumento: IL-2, IL-4, IL-7, IL-8
Anti-inflamatório	Pacheco, 2005. Marshal, 2004.	- Doenças intestinais: presença treonina e cisteína estimulando síntese de mucina e proliferação normal da microbiota intestinal. - Redução de IL-6, IL-8, IL-10, TNF- α e PCR por mecanismos ainda não conhecidos.
Antioxidante	Sousa <i>et al.</i> , 2012. Stokes <i>et al.</i> , 2018.	- Potencializa enzimas antioxidantes endógenas (glutathione peroxidase, superóxido dismutase, catalase, glutathione (GSH), entre outros antioxidantes protetores ação de radicais livres.
Exercício físico	Layman <i>et al.</i> , 2003. Davies; Carson; Jakeman, 2018	- Presença de aminoácido ACR; - Ação antioxidante; - Ativação via metabólica hipertrófica.

Nota: IL – interleucina; ACR – aminoácidos de cadeia ramificadas.

2.5 Exercício de Força: força e hipertrofia

Os relatos históricos mostram que a prática de exercícios com cargas é muito antiga e não há data precisa quanto ao seu surgimento. Porém, está documentado entre os objetos encontrados nas escavações arqueológicas em Olímpia - Grécia, pedras com entalhes para as mãos, o que permitiu os historiadores intuírem a utilização destas em treinamento (VILARTA, 2007). As gravuras encontradas nas paredes das capelas funerárias do antigo Egito registram jogos de arremessos de pedras, revelando que há mais de 4.500 anos havia prática esportiva com levantamento de cargas (PULCINELLI, [S.d.]).

A história de Milon de Crotona (500 a 580 a.C), importante atleta grego da época, nascido na Itália e vencedor de seis Jogos Olímpicos (RAULINO, 2012), remete à Grécia o berço do treinamento de força (VILARTA, 2007). Milon treinava carregando um bezerro nas costas até que se tornasse um touro, assim desenvolvia força e volume muscular nos membros inferiores (ARRUDA *et al.*, 2010) e ilustra o treinamento com carga progressiva empregado até os dias atuais. Também se atribuem a esse atleta os primeiros relatos quanto aos cuidados com a dieta, que consistia de 9 kg de carne, 9 kg de pão e 10 litros de vinho por dia e total de 57 mil kcal (PULCINELLI, [S.d.])

O treinamento de força (TF) é uma modalidade de exercício amplamente empregada para melhorar o desempenho atlético, aumentar a força muscular, área de secção transversa (hipertrofia), resistência muscular local, desempenho motor, equilíbrio e coordenação (KRAEMER; RATAMESS, 2004). Adicionalmente, tem sido indicado no acompanhamento de doenças crônicas não transmissíveis (SOUSA NETO *et al.*, 2017; TIBANA *et al.*, 2014).

É fundamentado em ações musculares voluntárias contra alguma forma de resistência para promover alterações morfofisiológicas, neural e muscular, resultando em aumento de força e da área da secção transversa (ACSM, 2009). Os movimentos podem ser executados com peso livre ou algum tipo de equipamento específico para obtenção de sobrecarga (FLECK; KRAEMER, 2017).

A progressão no TF consiste em manipular as variáveis do treinamento para aumentar o estresse a fim de alcançar melhoras orgânicas desejadas. ACSM (2009) traz a sobrecarga progressiva, a especificidade e a variação como os princípios fundamentais da progressão.

2.5.1 Progressão no treinamento de força

A progressão nos níveis de treinamento é estabelecida pelo aumento sistemático das exigências impostas ao corpo, alterando uma ou mais dos seguintes princípios: sobrecarga progressiva, especificidade e a variação (ACSM, 2009).

Sobrecarga progressiva é o aumento gradual do estresse imposto ao sistema muscular. Este pode ser modulado mediante a manipulação das variáveis do treinamento 1) intensidade do exercício a ser aumentada; 2) número de repetições totais; 3) velocidade; 4) período de descanso; e 5) volume de treinamento (ACSM, 2009; KRAEMER; RATAMESS, 2004).

A intensidade é uma variável determinada a partir do nível de condicionamento e dos objetivos do indivíduo, pode ser expressa em valores absolutos ou percentuais. O número de repetições é o somatório do número total de repetições realizadas em uma sessão de treinamento multiplicado pela carga de resistência usada.

2.5.2 Princípio da especificidade

Todas as respostas e adaptações são específicas para o estímulo aplicado e determinadas pelo tipo de ação muscular (concêntrica ou excêntrica); pela velocidade e amplitude do movimento; grupos musculares e sistemas energéticos envolvidos, além da intensidade e volume do treinamento (ACSM, 2009).

2.5.3 Princípio da variação ou periodização

É o processo sistematizado de alterar uma ou mais variáveis do programa de treinamento ao longo do tempo para possibilitar a permanência do estímulo do treinamento desafiadora e eficaz (ACSM, 2009). O conceito de periodização foi desenvolvido, e fundamentado em estudos sobre a síndrome da adaptação, por Hans Selye (SELYE, 1976). A aplicação deste princípio se faz necessária devido à rápida adaptação do corpo a um programa de TF (ACSM, 2009).

2.6. Músculo esquelético e sinalização hipertrófica

O tecido muscular esquelético é considerado um dos maiores órgãos do corpo humano, representa 40% da MC e pode conter até 50% da proteína total do corpo humano. É constituído por diferentes tipos de fibras (I, IIa e IIx), as quais apresentam diferenças no processo contrátil e energético (BOTTINELLI; REGGIANI, 2000), (Quadro 3). Essas diferenças são dependentes das isoformas de miosina de cadeia pesada e sua expressão gênica, que por sua vez determinam os componentes das miofibrilas e plasticidade apresentadas em resposta aos eventos fisiológicos e ambientais, possibilitando ação característica de cada tipo de fibra (STEWART; RITTWEGER, 2006).

Quadro 3 - Características das fibras do músculo esquelético

CARACTERÍSTICAS	TIPOS DE FIBRAS		
	I	IIa	IIx
Inervação	Menor diâmetro	Maior diâmetro	Maior diâmetro
Velocidade de contração	Lenta	Intermediária	Glicolítico
Metabolismo	Oxidativo	Oxidativo e Glicolítico	Baixa
Atividade enzimática Succinato desidrogenase Citrato sintase	Alta	Intermediária	Baixa
Atividade enzimática Lactato desidrogenase Fosfofruto quinase Piruvato quinase	Baixa	Intermediária	Alta
Densidade mitocondrial	Alta	Intermediária	Baixa
Concentração mioglobina	Alta	Intermediária	Baixa
Concentração glicogênio	Baixa	Intermediária	Alta

Nota: Diferença morfofuncional e metabólicas das fibras dos músculos esqueléticos.

É altamente adaptável, responde aos estímulos ambientais e fisiológicos, segundo o tipo de fibra estimulada, com alterações metabólicas, secreção de hormônios, fatores de crescimento e expressões gênicas específicas para biossíntese de proteína muscular, que culminam na adaptação quando estimulados continuamente (STEWART; RITTWEGER, 2006).

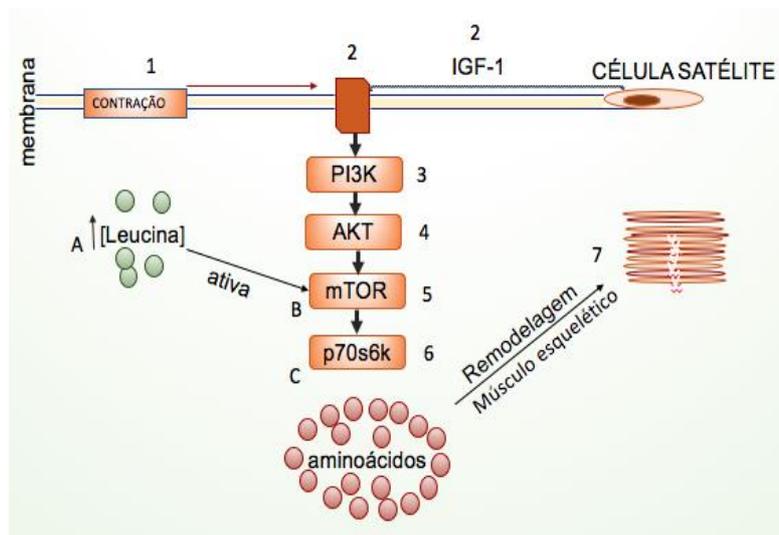
O aumento da força muscular e da área de secção transversa são respostas adaptativas almeçadas pelo praticante do treinamento de força, que é um estímulo mecânico capaz de desencadear sucessivas expressões gênicas por meio de diversas vias de sinalização, fenômeno conhecido como mecanotransdução (TIDBALL, 2005). A cascata metabólica iniciada pela ativação das integrinas resulta na modulação da biossíntese proteica (CARSON; WEI, 2000), captação de glicose e recrutamento de células imunes (CHAMBERS *et al.*, 2009; HORNBERGER; CHIEN, 2006; XU; HOSSAIN; LIU, 2013). Além disso, induz ao aumento na concentração plasmática de hormônios e IGF-1 (fator de crescimento tipo insulina) (MÔNICO-NETO *et al.*, 2013).

Os hormônios do crescimento, testosterona e insulina, encontram-se aumentados após o treinamento de força, sugerindo envolvimento com o processo hipertrófico. Entretanto, não há consenso na literatura a respeito da efetividade da ação destes hormônios aumentados em resposta ao treinamento no processo hipertrófico (WEST, DANIEL W D *et al.*, 2010). Enquanto o IGF-1, um regulador positivo do crescimento muscular, está envolvido na ativação das células satélites e na retenção de proteínas nas miofibrilas (ADAMS; MCCUE, 1998; MÔNICO-NETO *et al.*, 2013), ativação de genes e tradução proteica (HEINEMEIER *et al.*, 2006) como mediador da hipertrofia dos músculos esqueléticos induzidos por sobrecarga tensional (GOLDSPINK, G, 2003) (Figura 5).

A principal via de sinalização hipertrófica é a PI3K/Akt/mTOR/p70S6k (FERNANDES *et al.*, 2008). A PI3K (fosfatidilinositol -3K) pertence a um grupo de proteínas quinases serina/treonina, com função primária de fosforilar fosfatidilinositol, fosforilando a PI3-K e ativando a Akt (proteína quinase B). Tem função chave na síntese proteica e pode ser ativada tanto pelo TF, como por citocinas, hormônios e fatores de crescimento (LI; MARSHAL, 2015).

A Akt fosforilada ativa a mTOR, que por sua vez pode fosforilar várias moléculas, dentre as quais destacam-se a proteína ribossomal S6 de 70kDA (S6p70S6k) - que é a proteína ligante 1 do fator de iniciação eucariótico 4E (4E-BP1) - e o fator de iniciação eucariótico 4G (eIF4G), consideradas proteínas chaves regulatórias na transdução de sinal para remodelagem do tecido muscular (GONÇALVES, 2013; YOU *et al.*, 2015).

Figura 5 - Cascata metabólica para biossíntese proteica



Nota: 1) TF aumenta ativa PI3K e IGF-1 local. 2) PI3K ativada fosforila Akt. 4) Akt ativada fosforila mTOR, que controla crescimento celular ativando o fator de crescimento p70s6K e a síntese proteica mediante presença aminoácidos essenciais. 7) remodelagem músculo esquelético. A) aumento concentração leucina intracelular B) ativa mTOR, que ativa C) p70s6K e consequente aumento de proteína no músculo esquelético.

A leucina é um aminoácido considerado capaz de ativar a via hipertrófica a partir da mTOR, tanto pelo aumento de sua concentração intracelular, como por promover ação da insulina e consequente ativação dos receptores de membrana (IRS), dando início à cascata metabólica hipertrófica. Outro dado importante sobre o papel da leucina como nutriente capaz de favorecer a hipertrofia é mediante ativação direta da eIF4G (PILVI *et al.*, 2007; GONÇALVES, 2013).

2.7 Dieta hiperproteica, proteínas do soro do leite no treinamento de força

A recomendação proteica para adultos tem sido definida como resposta à ingestão de diferentes quantidades de proteínas de qualidade definida, capaz de manter o balanço nitrogenado em equilíbrio (balanço de nitrogênio igual a zero) (IOM, 2002; WHO, 2007).

A ingestão média de proteína para o adulto saudável é de $0,6 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \text{MC} \cdot \text{d}^{-1}$, enquanto a recomendação com segurança para a manutenção do estado nutricional adequado é de $0,83 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \text{MC} \cdot \text{d}$ (TOMÉ, 2012; WHO, 2007). No entanto, estes valores ainda são discutidos e estudados a fim de se obter valores mais adequados, principalmente às recomendações para idosos e atletas (FAO, 2013; KERKSICK *et al.*, 2018). Ainda assim, fundamentados nos

conhecimentos já obtidos, foram desenvolvidas recomendações nutricionais referentes às quantidades de nutrientes e energia necessárias para promoção, manutenção e restauração da saúde e qualidade de vida (WHO, 2007).

As *Dietary Reference Intakes* (DRI) são as mais recentes revisões das recomendações de energia e nutrientes adotados pelos Estados Unidos e Canadá. Substituíram as revisões da RDA (*Recommended Dietary Allowance*) desde 1989 e suas atualizações são publicadas na forma de relatórios parciais pelo *Institute of medicine* norte-americano e pela *Health Canada* (AMAYA-FARFAN; DOMENE; PADOVANI, 2001; IOM, 2002).

As DRI foram adotadas pelo Brasil e são recomendadas como referência para o planejamento e avaliação de dietas destinadas a indivíduos aparentemente saudáveis (PADOVANI *et al.*, 2006). A quantidade de proteína recomendada para adultos saudáveis são $0,66 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{MC} \cdot \text{d}^{-1}$ a $0,8 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{MC} \cdot \text{d}^{-1}$, valores semelhantes aos propostos pela WHO (2007). Estas diretrizes classificam como dieta hiperproteica as planejadas a partir de $1,0 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{MC} \cdot \text{d}^{-1}$ (IOM, 2002; TARNOPOLSKY; MACDOUGALL; ATKINSON, 1988). Entretanto, a ISSN recomenda $1,2 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{MC} \cdot \text{d}$ como valor de ingestão mínima para atletas (KERKSICK *et al.*, 2018).

Os exercícios de força resultam fundamentalmente em estímulo anabólico para o músculo esquelético e, quando executados com muita frequência, podem promover diferentes níveis de hipertrofia muscular (WERNBOM; AUGUSTSSON; THOME, 2007). Estas peculiaridades do TF tornam essenciais o maior aporte proteico e o adequado suprimento energético, assegurando a disponibilização dos aminoácidos e nitrogênio para a função plástica e não energética (MITCHELL *et al.*, 2017; STOKES *et al.*, 2018). A demanda deste macronutriente foi aumentada tanto pela biossíntese de proteínas, quanto pelo esforço do organismo em retornar à homeostase (HAWLEY *et al.*, 2014) e atender às funções fisiológicas características delas (nutritivas, enzimáticas, hormonais, estrutural, entre outras). Isso para manutenção do estado nutricional adequado (FAO, 2013; WITARD *et al.*, 2016), reforçando o pensamento de que a dieta hiperproteica para atletas e praticantes de exercícios de força é uma necessidade para manutenção da saúde e rendimento esportivo (SCHOENFELD; ARAGON, 2018).

Desta forma, com o balanço energético positivo e estado nutricional supridos, aumenta-se o potencial efeito hipertrófico da combinação da dieta hiperproteica com o TF (FAO, 2013; IOM, 2002; MORTON; MCGLORY; PHILLIPS, 2015) e torna-se essencial considerar a quantidade, qualidade e digestibilidade do alimento fonte de proteína a ser empregada para obtenção de melhores resultados (REIDY; RASMUSSEN, 2016). As diferentes fontes proteicas

comportam-se segundo as funções e quantidades dos aminoácidos componentes de sua estrutura molecular (TOMÉ, 2018).

Estudo realizado comparando a PSL, caseína e proteínas de soja, Tang e Phillips (TANG; PHILLIPS, 2009) mostraram maior ganho de massa magra em resposta ao consumo de PSL e caseína do que a ingestão de proteína da soja. Os referidos autores relataram que os peptídeos e aminoácidos da soja foram direcionados para a síntese de proteínas esplâncnica (principalmente intestinos e fígado) e convertidas em ureia em maior extensão do que as proteínas de origem láctea. A presença de fatores antinutricionais, menor digestibilidade e presença de aminoácidos limitantes são apontados como causas de menor resposta a SPM por proteínas de origem vegetal (PHILLIPS, 2016). Volek *et al.* (2013) descreveram a importância da qualidade da proteína para obtenção de maior SPM mediante aumento na quantidade de oferta de proteína de soja, sem que obtivessem aumento na SPM em resposta ao maior aporte dessa fonte proteica. Assim, mostraram que a qualidade proteica não é substituída pelo aumento da quantidade oferecida, conforme sugerido por alguns autores (MORIFUJI *et al.*, 2010; PAUL, 2009; REIDY *et al.*, 2014)

Em relação à quantidade de proteína, é crescente o número de estudos mostrando que 1,6 g de proteínas. Kg⁻¹.d⁻¹.MC de boa qualidade e digestibilidade (CERMAK *et al.*, 2012; MORTON *et al.*, 2018; STOKES *et al.*, 2018), é suficiente para obtenção de hipertrofia ou cerca de 20g após o TF (ARETA *et al.*, 2013; HAUN *et al.*, 2018).

Segundo Fouillet *et al.* (2002), no repouso, aproximadamente 50% da proteína ingerida oralmente é utilizada como substrato energético no trato gastrointestinal, cerca de ~10% é utilizada para biossíntese proteica do músculo esquelético, enquanto o restante é oxidado ou transaminado para ressíntese de aminoácidos. A baixa quantidade de aminoácidos capaz de participar da SPM, quando comparada a quantidade ingerida, é condizente com um possível fator intrínseco, ainda não elucidado, capaz de limitar a síntese de proteínas mesmo na presença hiperaminoacidemia (STOKES *et al.*, 2018). Também auxilia na compreensão quanto ao aumento da SPM na associação TF e hiperaminoacidemia por ingestão dietética, porém acompanhado de um limite de tempo de biossíntese proteica (WEST, W. D. *et al.*, 2011). É, ainda, um dado elucidativo para as quantidades ótimas de ingestão proteica para hipertrofia o fato de se localizarem próximas aos valores de 20g, quando o alimento fonte de proteína apresenta boa qualidade, elevada digestibilidade - como as PSL - e ingerida após o treinamento (ARETA *et al.*, 2013; McADAM *et al.*, 2018).

2.8 Experimentação em modelo animal

A utilização de animais em pesquisas data desde 450 a.C., período em que Hipócrates já relacionava o aspecto do órgão humano doente com o de animais para fins didáticos. Aristóteles (384 - 322 a. C.) valeu-se do modelo animal para realizar estudo comparativo entre órgãos de animais e dos seres humanos, estabelecendo as diferenças e semelhanças (COSTA *et al.*; 2014). Por sua vez, William Harvey (1578 - 1657) usou diversos modelos animais, como sapos, rãs, cobras, caranguejos, cães, entre outras espécies, para descobrir a circulação sanguínea, e deixou uma obra intitulada “*Um tratado anatômico sobre o movimento do coração e do sangue nos animais*”, publicado em 1628 (SILVA *et al.*, 2008).

No século XVIII, Louis Pasteur beneficiou a sociedade da época e a saúde humana, ao descobrir que a cólera era uma doença bacteriana inoculando cepas destes micro-organismos em galinhas. Depois, quando as bactérias já se encontravam envelhecidas, portanto menos ativas, Pasteur as inoculou em galinhas, as quais não desenvolveram a doença. Seguindo o mesmo princípio, em 1885, Pasteur desenvolveu a vacina antirrábica ao inocular o vírus menos ativo da doença no cérebro de coelhos (RAW; MENNUCCI; KRASILCHIC, 2001).

No entanto, foi em 1865 que Claude Bernard lançou os princípios do uso de animais como modelo de estudo e extrapolação para a fisiologia humana. A obra foi intitulada *Introdução ao Estudo da Medicina Experimental* e tornou clara a aplicabilidade dos estudos em modelo animal aos humanos (FAGUNDES; TAHA, 2004).

Desta forma, as ciências biológicas desenvolveram-se velozmente vinculadas aos estudos em modelo animal, caracterizando a essencialidade do animal para o avanço do conhecimento, prevenção e tratamento de doenças, além de favorecer o desenvolvimento humano de forma ampla (ALMEIDA, 2014; GOBATTO *et al.*, 2001). Segundo Costa *et al.*; (2014), mais de 70% dos principais avanços biomédicos estão relacionados à experimentação em modelos animais. Enquanto Almeida (2014), destaca que cerca de 70% dos vencedores do Prêmio Nobel de Fisiologia e Medicina utilizaram o animal em suas pesquisas, Damatta (2010) acrescenta que os outros 30% dos premiados basearam-se em conhecimentos resultantes de estudos realizados em modelo animal. Entretanto, Almeida (2014), ao firmar a importância do experimento animal, ressalta que apesar das semelhanças entre o modelo animal e o humano, a transposição da informação para o humano deve ser tomada com cautela.

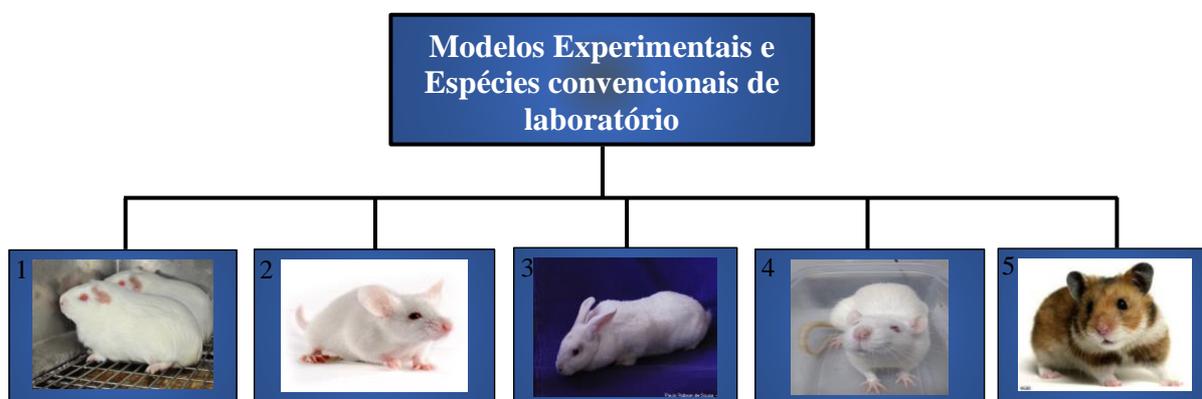
A partir da compreensão de que as ciências biológicas têm por finalidade descrever os fenômenos ocorridos em seres vivos e a realização de estudos experimentais têm a finalidade de explicar esses acontecimentos, um experimento passa a ser uma interação entre reagentes

químicos e/ou biológicos. Nesse contexto, o modelo animal passa a ser um reagente biológico (PAIXÃO, 2001) tornando-se fundamental a compreensão do significado do termo “modelo”. Pois na condição de pesquisa, o “modelo” tornou-se um objeto de imitação ou um referencial representante de alguma coisa ou alguém e o animal assume o papel de reagente biológico utilizado para elucidar um fenômeno, mediante experimentação representando o ser humano. A partir de então, a escolha do modelo animal deve ser revestida do conhecimento da similaridade com o ser humano no estudo a ser realizado, cabendo ao pesquisador a responsabilidade da escolha adequada do modelo animal aos objetivos do estudo (COSTA *et al.*, 2014; FAGUNDES; THA, 2004).

Não foi encontrada uma restrição quanto ao modelo a ser empregado, mas confirmou-se uma escolha do pesquisador ao modelo animal. Fletcher; Hopkins; Gowland (1907) confirmaram produção de ácido láctico muscular usando sapos como modelo animal, mesmo modelo utilizado por August Krogh (1919) para estudar a taxa de difusão da troca de gases através das membranas dos tecidos. Krebs; Salvin; Jhonson (1938) comprovaram ocorrência do ciclo do ácido cítrico em organismo vivo utilizando coelhos. Watanabe *et al.* (2018) analisaram efeito de medicamentos em cachorro. Almeida (2014) faz menção aos cavalos (animal de grande porte), enquanto Damatta (2010) menciona os porcos (animal de médio porte, assim como o cachorro) como excelente modelo animal, e destaca a necessidade de instalações elaboradas, mas com custo elevado.

Mesmo com possibilidade de utilizar diferentes animais na experimentação, houve crescente desenvolvimento na área de bioterismo e manuseio dos roedores, favorecendo o uso desse modelo animal nas pesquisas. Estes são também denominados modelos convencionais de laboratório, criados em biotério para uso exclusivo de experimentos científicos: os camundongos, cobaias, coelhos, ratos e *hamsters* (Figura 6). Destes, o modelo mais utilizado são os ratos e camundongos (PELUCI *et al.*, 2017).

Figura 6 - Espécies convencionais de animais de laboratório



Nota: 1) Cobaia (*Cavia porcellis*); 2) camundongo (*Mus musculus*); 3) coelho (*Oryctolagus cuniculus*); 4) rato (*Rattus norvegicus*); 5) hamster (*Mesocricetus auratus*).

Fonte: Costa *et al.*, 2014; Peluci *et al.*, 2017.

Ademais, por questões éticas, é vedada a utilização de seres humanos em pesquisas fundamentais para compreensão de eventos fisiológicos em resposta a diversas intervenções terapêuticas e nutricionais, tanto como finalidade de tratamento como de prevenção de doenças, tornando crucial a utilização do modelo animal (DAMATTA, 2010). Também se considera que o código de Nuremberg prevê o desenvolvimento de experimento animal antes da aplicabilidade em humano (ALBUQUERQUE, 2013).

Como exemplo, temos o dos transplantes de órgãos, que são sistematicamente estudados pelo modelo murino (ratos e camundongos) para conhecimento da fisiopatologia, imunologia de transplantes e técnicas operatórias (MARTINS, 2003). Outro exemplo são os avanços nos estudos com medicamentos realizados em diversos animais: Watanabe *et al.* (2018) estudaram aplicabilidade de analgésico em cães, que se encontra entre os medicamentos essenciais no tratamento de dores e doenças.

2.8.1 Modelo animal e exercício físico

É crescente o volume de estudos envolvendo o exercício físico e seus benefícios, tanto para a saúde (ALMEIDA *et al.*, 2012; SOUSA NETO *et al.*, 2017) quanto no desenvolvimento de estratégias para melhorar rendimento físico (HARTY *et al.*, 2018), tornando essencial a utilização do modelo animal para contínuo avanço na ciência do exercício (ANGELIS, *et al.*, 2017).

As respostas dos roedores quando submetidos à realização de diferentes protocolos de exercícios, principalmente os ratos, têm evidenciado a similaridade desse modelo animal com o humano (ALMEIDA *et al.*, 2012) sugerindo a possibilidade de os achados serem equiparados a humanos. Fato que justifica a prevalência do uso de ratos em experimentos para analisar as respostas agudas e crônicas ao treinamento físico (GOBATTO *et al.*, 2001; KLITGAARD, 1988).

O roedor responde ao estímulo de contração muscular de forma muito similar ao humano, sendo este um dos pontos mais relevantes para a utilização desse modelo animal em experimentos envolvendo exercício físico (GOBATTO; MANCHADO-GOBATTO, 2011). Visto que facilitam a análise de tecidos e órgão ou funções fisiológicas mais aprofundadas em resposta a diferentes estímulos do exercício, os quais não são viáveis em humanos, tanto por questões éticas quanto de risco à saúde (ROGATTO, GUSTAVO PUGGINA; LUCIANO, 2001).

O exercício físico é uma importante ferramenta no tratamento da obesidade e muito importante a realização do treinamento em intensidade adequada para favorecer a redução do tecido adiposo (ALMEIDA *et al.*, 2014). A fim de determinar intensidade do exercício (corrida em esteira) na promoção efetiva de emagrecimento, Araújo *et al.* (2009) determinaram a máxima fase estável de lactato para identificação da intensidade do treinamento. Após a eutanásia, procederam com retirada e pesagem dos sítios de gordura da cavidade abdominal e subcutânea para quantificar o efeito do exercício em diferentes tecidos adiposos (procedimento viável apenas em modelo animal).

Outro ponto relevante é a possibilidade de controlar o ambiente contra interferências exógenas, tais como nutricionais e ambientais, potencializando obtenção direta do efeito fisiológico promovido pelo exercício (GOBATTO *et al.*, 2001). Outro fator importante para a utilização desse modelo animal é o tempo de vida relativamente curto do roedor, permitindo a compreensão do efeito do treinamento físico em todas as fases da vida em curto espaço de tempo (6 meses a dois anos), o que viabiliza estudo longitudinal rápido (BOOTH; LAYE; SPANGENBURG, 2010), que seria inviável em humanos.

Booth *et al.* (2010) e Gobatto *et al.* (2001) trouxeram a natação e a corrida em esteira como métodos de treinamento mais empregados para estudar respostas fisiológicas ao exercício físico em ratos, além da essencialidade da prescrição correta do volume e intensidade do treinamento para obtenção de resultados fidedignos. Por isso, alertam para a importância da adequação do treinamento específico para o roedor, assim como a seleção de métodos compatíveis com o objeto de estudo e análise dos resultados, pois se faz necessária a utilização

de coerência entre modelo animal, tipo de exercício físico e métodos empregados para obtenção de resultados por parte dos pesquisadores. Visto que, segundo Booth *et al.* (2010), é crescente o número de estudos em exercício, bioquímica e fisiologia empregando métodos não compatíveis com as discussões e conclusões para estudar o treinamento físico.

Portanto, apesar da ausência de validação para extrapolar resultados de experimento em modelo animal para o ser humano, cabe ao pesquisador aproximar seus achados a fim de beneficiar a população com os esforços empreendidos em âmbito laboratorial e contribuir para o avanço da ciência do exercício (DAMATTA, 2010; GOBATTO; MANCHADO-GOBATTO, 2011).

2.8.1.1 Modelo animal e treinamento de força

O músculo esquelético responde ao estímulo das contrações musculares com inúmeros efeitos agudos e adaptativos, tanto a nível celular quanto sistêmico, na tentativa de trazer o organismo de volta à homeostase alterada pelo exercício (HAWLEY *et al.*, 2014). As respostas ao treinamento de força se destacam pela expressão fenotípica de aumento da área de secção transversa, além do aumento da força muscular (HOPPELER *et al.*, 2011). Essas expressões são importantes tanto para o esporte, pois aumentam a competitividade com maiores condições de vitórias, quanto para a saúde humana de forma geral (STOKES *et al.*, 2018).

O tecido muscular esquelético desempenha importante papel na captação da glicose pós-prandial (WANG *et al.*, 2010), no sustento da locomoção (GRANACHER *et al.*, 2013) e contribui de forma significativa para o gasto energético total (OZAKI *et al.*, 2016). Funções do tecido muscular esquelético são consideradas essenciais para a qualidade de vida, assim como para a prevenção ou melhora do quadro clínico das doenças crônicas (diabetes tipos 2, dislipidemias, entre outras).

As respostas ao TF geram efeitos adaptativos que impactam de forma direta nas funções dos músculos esqueléticos, melhorando o metabolismo da glicose e lipídios, aumentando a força muscular e área de secção transversa, repercutindo na saúde metabólica de portadores de doenças crônicas (NICASTRO *et al.*, 2012), da obesidade (SOUSA NETO *et al.*, 2017), além da saúde mental (STRICKLAND; SMITH, 2017), além de desempenharem importante papel junto ao rendimento de atletas e para área esportiva (STOKES *et al.*, 2018).

A amplitude dos benefícios relacionados ao TR torna crucial o desenvolvimento e aperfeiçoamento de protocolos aplicados aos roedores, os quais precisam mimetizar a prática

humana, tanto em relação aos parâmetros de treinamento, quanto às adaptações resultantes (HORNBERGER JR.; FARRAR, 2004). Os protocolos atuais, ainda, não apresentam referenciais bem definidos, a exemplo dos existentes para determinação do limiar anaeróbio por lactatemia (HECK *et al.*, 1985), padronizados para roedores nadadores e corredores. Esses parâmetros bem estabelecidos favorecerão melhor controle e monitoramento das intensidades de exercício durante a realização de experimento em modelo animal (GOBATTO *et al.*, 2001) (GOBATTO; MANCHADO-GOBATTO, 2011) e, conseqüentemente, fornecerão subsídios para aplicabilidade do TF em benefício humano (DUNCAN *et al.*, 1998; GORDON *et al.*, 1967).

Para apresentar a evolução dos estudos científicos sobre hipertrofia e aumento de força muscular, o presente trabalho dispôs as diferentes intervenções aplicadas no modelo animal em indução a hipertrofia não-voluntária, e modelo animal em indução a hipertrofia voluntária. O primeiro se refere à utilização de recursos cirúrgicos e eletroestimulação para obtenção de hipertrofia independentemente de submissão ao exercício, enquanto o segundo baseia-se em respostas do animal aos estímulos ambientais para realização de treinamento de força (CHOLEWA *et al.*, 2017).

Modelo de indução a hipertrofia não-voluntário

Um dos primeiros relatos de indução a hipertrofia muscular não voluntária descrita foi o de Thomsen; Luco (1944), no qual imobilizaram o tornozelo com o sóleo em hiperextensão, pois acreditavam que encontrariam aumento de volume muscular de natureza transitória. Houve o aumento do músculo esquelético, que alcançou o pico em aproximadamente 7 dias, seguido de regressão (THOMSEN; LUCO, 1944).

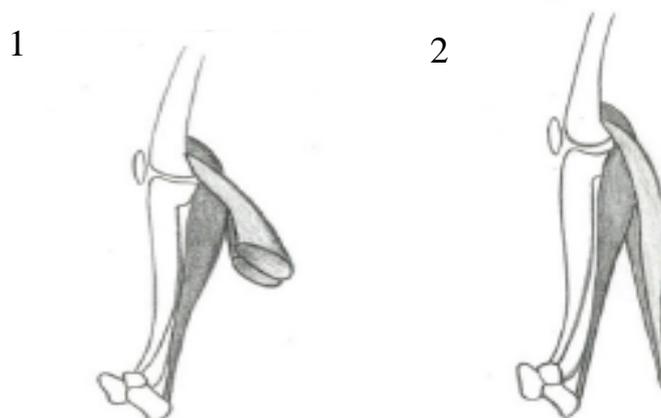
Goldberg (1968) desenvolveu eficiente método de hipertrofia não-voluntária mediante ressecção de músculos sinergistas. Retirou, unilateralmente, o gastrocnêmio de um grupo e infundiu leucina-¹⁴C em todos os grupos. Os resultados obtidos apontaram para hipertrofia significativa nos músculos sóleo e plantaris dos membros que passaram por remoção do gastrocnêmio; o aumento foi de ~36% e 15%, respectivamente. Entre todos os animais estudados, os músculos hipertrofiados apresentaram maior incorporação de leucina-¹⁴C (Figura 7.1).

Em outro momento, Goldberg *et al.* (1975) usaram ratos para avaliar a hipertrofia dos músculos sinérgicos ao gastrocnêmio mediante destacamento da inserção do tendão, pois havia a hipótese de serem encontrados mesmos resultados que o do experimento desenvolvido em

1968. Porém, os resultados mostraram que o destacamento do tendão foi menos eficiente na promoção da hipertrofia do que a ressecção do músculo. É provável ter ocorrido adesão espontânea do tendão, o que seria causa da menor eficiência desse método quando comparado ao anterior (Figura 7.2).

Apesar da ressecção do gastrocnêmio ter apontado para maior hipertrofia que o destacamento do tendão, ambos procedimentos induziram à hipertrofia muscular por compensação durante a marcha. Porém, sem possibilidade de reprodução humana para obtenção de hipertrofia.

Figura 7 - Espécies convencionais de animais de laboratório



Nota: 7.1) ressecção gastrocnêmio. 7.2) ruptura tendão de inserção do gastrocnêmio

Fonte: Godberg, 1968.; Cholewa, 2014.

Aplicando o mesmo método de hiperextensão e imobilização de músculos esqueléticos com acréscimo de cargas em galinhas, Sola; Christensen; Martin (1973) induziram, por método cirúrgico (um dos grupos com privação do plexo nervoso braquial), cargas de 50g, 100g ou 200g em cada lado da asa esquerda. As cargas foram conduzidas mediante fio de aço inoxidável traspassado entre o rádio e a ulna, e próximo à articulação proximal; assim, foram fixadas as cargas nos dois lados da asa e provocaram o estiramento do músculo *Latissimus dorsi* anterior. Na primeira semana, houve aumento de até 80% da massa muscular e pico de ~ 180% em cinco semanas. O grupo com denervação associada à carga apresentou maior AST e força muscular que os grupos com apenas estiramento do músculo *Latissimus dorsi* anterior.

Em 1989, Alway *et al.* adaptaram o método de Sola *et al.* (1973) e aplicaram o estiramento do músculo *Latissimus dorsi* anterior em codornas japonesas, provocaram tensão

longitudinal nas articulações usando cones de papelão contendo a carga de 10% da massa corporal da codorna, e colocados de forma a deixar a asa num ângulo de 30° do tórax. Os autores obtiveram como resultado aumento do número de fibras musculares de ~ 52% (Figura 8).

Figura 8 - Espécies convencionais de animais de laboratório



Nota: Imobilização realizada por cone de papelão com ângulo de 30° em relação ao tórax.

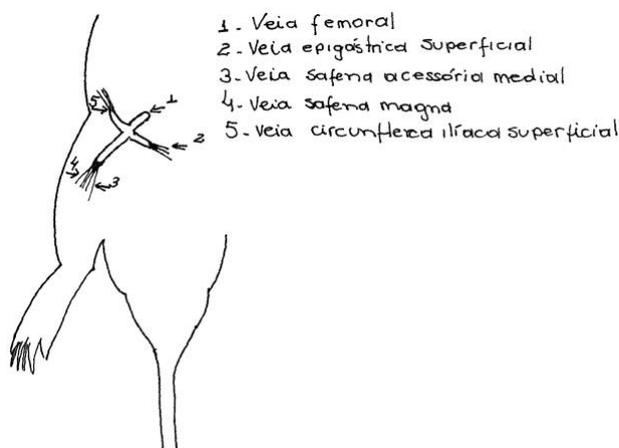
Fonte: Alway *et al.*, 1989. .

Os estudos com hiperextensão e hiperflexão muscular se mostraram efetivos na indução da hipertrofia e aumento de força muscular, pioneiros para elucidar o processo de hipertrofia. Porém, de baixa reprodutibilidade e seguidos por modelos mais eficazes para indução a hipertrofia.

A oclusão parcial do fluxo sanguíneo foi um método não-voluntário para induzir a hipertrofia apresentado por Kawada; Ishii (2005). Por intervenção cirúrgica, os ratos tiveram o fluxo sanguíneo para os membros inferiores reduzidos e, 14 dias após o procedimento cirúrgico, o músculo plantar apresentou aumento, em peso seco, de 10%. Por outro lado, a concentração de proteína miofibrilar aumentou em 23%. Adicionalmente, os pesquisadores constataram que houve aumento nas concentrações de IGF-1 e da enzima óxido nítrico sintase (Figura 9).

É um modelo experimental com resultados positivos para hipertrofia com respostas características da realização de treinamento de força (aumento de IGF-1 e retenção de proteínas nas miofibrilas). Todavia, a impossibilidade de reprodução humana é seu principal fator limitante, seguido da possibilidade de outros desenhos experimentais menos agressivos e com maiores respostas que as apresentadas.

Figura 9 - Indução a hipertrofia não-voluntária por restrição do fluxo sanguíneo para os membros inferiores



Nota: Desenho ilustrativo ponto anatômico de obstrução venosa.

Fonte: Adaptado de Kawada; Ishii (2005).

Modelo não-voluntário com eletroestimulação

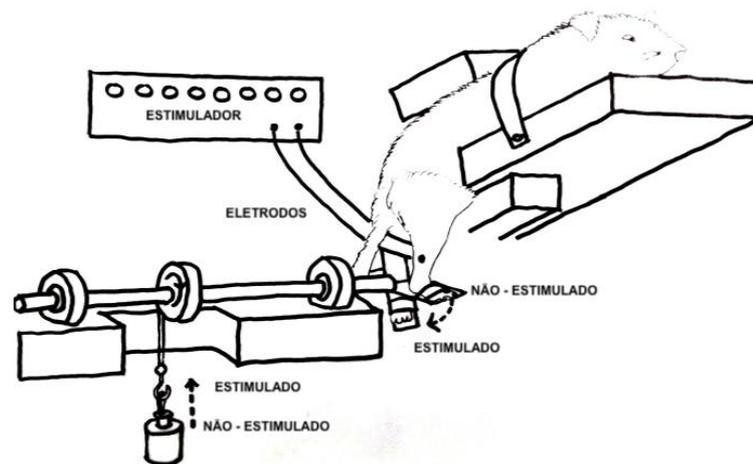
Wong e Booth (1988) descrevem como método não-voluntário mimetizando treinamento de força em humanos mediante resposta a estímulo elétrico. Desenvolveram aparato específico para obtenção de hipertrofia de membros inferiores e utilizaram ratas Sprague-dawley para analisar as respostas morfológicas e a quantidade de RNA após 16 semanas. Antes de cada sessão, as ratas eram anestesiadas com éter, tinham a massa corporal determinada e os pelos raspados. Em seguida, eletrodos foram inseridos subcutaneamente e posicionados bilateralmente ao longo das superfícies dos flexores plantares, na parte inferior da perna direita. O local de inserção do eletrodo foi marcado no primeiro dia de treinamento para possibilitar reprodução nas inserções subsequentes. O aparato de treinamento, disposto na figura 10, consistiu de uma barra de polia (21,5 cm) montada sobre uma prancha de 20 cm x 25 cm. Uma placa (6 cm x 2 cm) foi soldada a uma extremidade da barra e, nela, o pé direito da rata era fixado com fita adesiva. Uma polia foi fixada na barra a 5 cm da placa para o pé, com finalidade de dar estabilidade e apoio. Uma segunda polia, com movimentos livres, foi fixada a 13 cm da placa para o pé.

Nessa polia, foi inserida uma correia para sustentar a carga, soldada na barra da mesma forma como a placa para o pé. Assim, qualquer movimento pela placa do pé, devido a flexão plantar da pata da rata, repercutia em movimento para polia comparável a levantamento de carga.

O estímulo elétrico para a contração tinha pulso de 1 ms a 100 Hz e 15 V e duração de 2,5 segundos para produzir contrações submáximas de intensidade e força suficientes para levantar uma determinada carga (500g), até uma execução quase completa no início de uma sessão de treinamento, evitando fadiga excessiva. Os resultados apresentaram modesto e insuficiente aumento na AST.

A complexidade do equipamento é um fator limitante para a reprodução desse desenho experimental, além de as respostas hipertróficas características do uso de eletroestimulação iniciarem pela fibra muscular lenta.

Figura 10 - Indução à hipertrofia dos músculos posteriores distais inferiores das pernas por estímulo elétrico



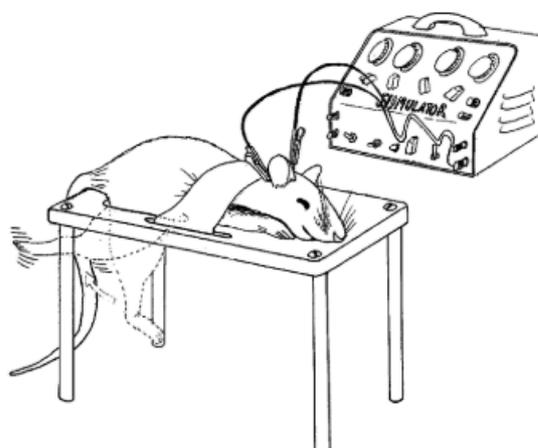
Fonte: Adaptado de Wong; Booth (1988).

Baar e Esser (1999) adaptaram o método de Wong e Booth (1988) e adotaram procedimento cirúrgico para inserir os fios de eletrodos no ponto anterior a trifurcação do nervo ciático. O corpo da rata foi amarrado ao aparato de estimulação, ao pé direito foi permitido mover-se livremente e eletrodos externos foram fixados na parte posterior do pescoço. A voltagem aplicada foi de 5 V a 7 V. A contração muscular foi induzida estimulando o nervo com 100 Hz. As contrações duraram 3 segundos, seguidas de descanso de 10 segundos, momento em que o pé voltava à posição neutra. Após a 6ª repetição, houve adicional de 50 segundos de repouso. Esse padrão de estimulação foi repetido para 10 séries de 6 repetições, resultando em 60 contrações em 22 minutos. O local de posicionamento dos eletrodos induziu a contração muscular simultânea dos músculos distais dos membros inferiores, o que resultou em flexão plantar do tornozelo e execução esperada do movimento. Os resultados mostraram

que o método provocou aumento de AST e síntese de proteínas, pois os autores identificaram fosforilação da p70S^{6k} e formação de polirribossomos (Figura 11).

Os resultados evidenciaram que este método aumenta síntese proteica das miofibrilas e a hipertrofia foi capaz de alterar o fenótipo muscular. Porém, apresenta as desvantagens da complexidade do equipamento desenvolvido, o uso o estímulo elétrico como meio de induzir o animal ao treinamento resistido e resposta hipertrófica iniciada com fibras vermelhas.

Figura 11 - Indução à hipertrofia dos músculos posteriores distais inferiores das pernas por estímulo elétrico



Fonte: Baar; Esser (1999).

O modelo desenvolvido por Wong e Booth (1988) e adaptado por Baar e Esser (1999) continuou a ser aplicado por outros pesquisadores para determinar e quantificar hipertrofia, síntese de proteína muscular, sequenciamento genético e IGF-1 (GOLDSPINK, 2003; GOLDSPINK; GEOFFREY, 1999; HADDAD; BODELL, 2006).

Conforme disposto, a indução à hipertrofia não-voluntária se mostrou eficaz para biossíntese proteica, promoveu o aumento da massa muscular (em gramas) e da área de secção transversa. Apesar das limitações próprias do modelo (anestesia, não controle da intensidade, baixa resposta hipertrófica e não reprodução do treinamento para hipertrofia em humanos), possibilitou estudos para obtenção de dados referentes ao metabolismo e síntese das proteínas musculares.

Quadro 4 - Modelo animal de indução à hipertrofia com estímulo não-voluntário

Autor e ano	Período	Animal	Método	Músculo
Thomsen; Lucco. 1944	30 dias	gatos	- Imobilização tornozelo com Hiperextensão, e hiperflexão músculos sóleo e tibial anterior. -Tenotomia. -Estímulo elétrico nervo ciático. -Anestesiados com Éter	- Hiperflexão aumentou peso do sóleo e reduziu peso tibial anterior. Hiperextensão diminuiu peso sóleo e aumentou o do tibial anterior.
Goldberg <i>et al.</i> , 1968.	2 sem ***	Ratos	- Tenotomia de gastrocnêmio.	- Hipertrofia do sóleo e plantaris
Sola; Khristersen; Martin. 1973	20 dias ****	Galinhas	- Denervação e fixação carga na asa da galinha.	- Dorso latíssimo posterior, aumento volume e peso.
Goldberg <i>et al.</i> , 1975.	2 sem	Ratos	- tenotomia ruptura de tendão	- Hipertrofia do sóleo e plantaris
Wong; Booth. 1988	16 sem	Ratas*	- Treinamento força em resposta a estímulo elétrico. - Quantificação proteína miofibrilas e RNA - Ratas anestesiadas com éter. - Aparato de treinamento próprio.	- Flexor plantar, tibial anterior e gastrocnêmio apresentaram aumento de peso e volume.
Alway, <i>et al.</i> , 1989	2 sem	Codorna japonesa	- Imobilização com hiperextensão da asa utilizando tubo de papelão e fixação carga nesse tubo	- Dorso latissimus anterior com aumento do conteúdo fibras musculares.
Baar; Esser. 1999	6 sem	Ratas**	- Treinamento de força em resposta a estímulo elétrico. - Inserção eletrodos por procedimento cirúrgico. - Aparato de treinamento próprio. - Anestesiados com Ketamine e Xilazine. - Quantificação proteínas ativas via metabólica hipertrofia.	- Aumento síntese proteica tibial anterior e extensor longo dos dedos.
Kawada; Ishii. 2005	2 sem	Ratos **	- Oclusão parcial do fluxo sanguíneo. Safena magna.	- Hipertrofia músculo plantar

Nota: * Sprague-Dawley. ** Wistar. *** após tenotomia. **** 20 dias após realização denervação.

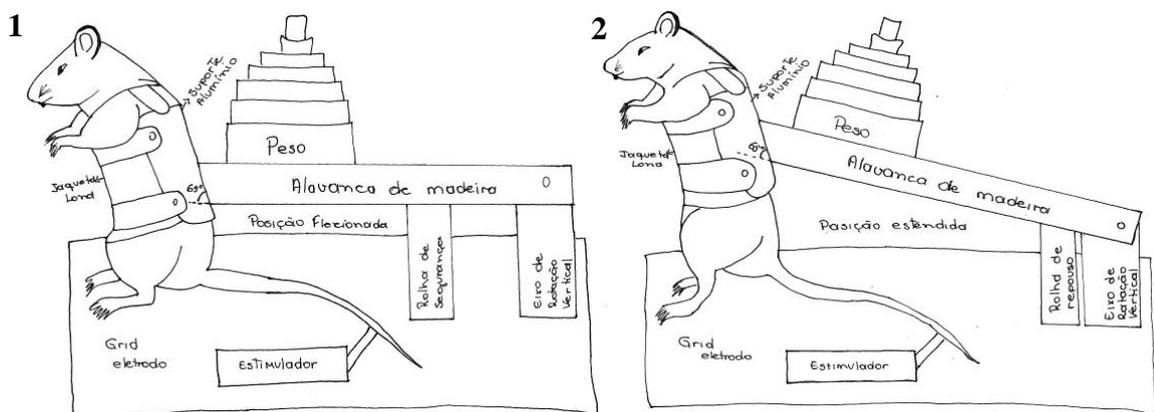
2.8.1.2 Modelo de indução a hipertrofia voluntária

Modelo voluntário com equipamento para agachamento

Tamaki *et al.* (1992) desenvolveram um protocolo para indução de hipertrofia de membros inferiores mediante realização de agachamento em equipamento desenvolvido para essa finalidade (Figura 12). A altura e ângulos entre as hastes de madeira possibilitavam a execução do exercício de forma adequada. Na extremidade do braço do equipamento, havia uma jaqueta de lona que, ao ser vestida, induzia o rato a ficar em pé sobre as patas traseiras e permitia a flexão do tronco, tornando viável a realização dos movimentos característicos de agachamento. Para execução do exercício, era utilizado estímulo elétrico de 10 V por 0,3 segundos e intervalos de 2 segundos, capaz de induzir a treinamento de 65% a 75% de 1RM. As sessões de treinamento foram realizadas 4 vezes/semana, compostas por 15 séries com 15 repetições e 2 minutos de repouso entre as séries.

É um modelo com a desvantagem de reprodução do equipamento empregado. A intensidade proporcionada limita resposta hipertrófica, e conseqüentemente os resultados de força e hipertrofia e o uso de estímulo elétrico podem ser um fator confundidor nas respostas anatômicas e fisiológicas devido ao estresse gerado pela dor e fadiga exacerbada do estímulo.

Figura 12 - Modelo animal pesquisa experimental em treinamento de força



Nota: 12.1) Animal em posição flexionada; 12.2) Posição estendida em resposta ao estímulo elétrico.

Fonte: Adaptado de Tamaki *et al* (1992).

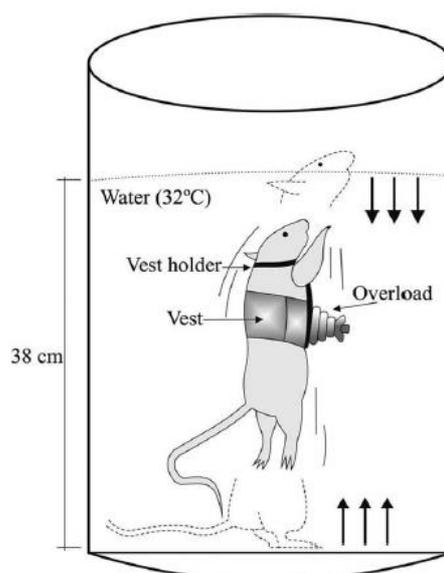
Modelo salto aquático

O treinamento de força em água exige um período de adaptação ao meio líquido, a fim de minimizar efeito estressor da água (ROGATTO, GUSTAVO PUGGINA; LUCIANO, 2001). O tempo de imersão em água em minutos, e o número de dias de submersão foi determinado pelos autores (ROGATTO, G. P.; LUCIANO, 2001; ROGATTO *et al.*, 2004).

O protocolo de treinamento em ambiente aquático consiste em induzir o rato a saltar em recipiente plástico (piscina para roedor), estando submerso em água com nível de até 150% do comprimento do corpo. As cargas (chumbo) são anexadas ao peito do animal para promover a submersão. O rato, ao tocar no fundo do recipiente, salta para emergir e respirar. O nível de água e a carga anexada no peito do animal geram a resistência ao exercício. O número de sessões de treinamento e de séries componentes é determinado segundo o objetivo do experimento (CUNHA *et al.*, 2005; SOUZA *et al.*, 2011; LIMA *et al.*, 2018), conforme figura 13.

O modelo de treinamento tem como desvantagem o risco de afogamento, a necessidade de controle da temperatura da água por volta de 31°C, além do estresse em resposta ao ambiente aquático. Apresenta como vantagem utilizar resposta natural à submersão a água e o retorno a superfície para respirar como meio de induzir o animal à realização do exercício.

Figura 13 - Treinamento de força com salto em água



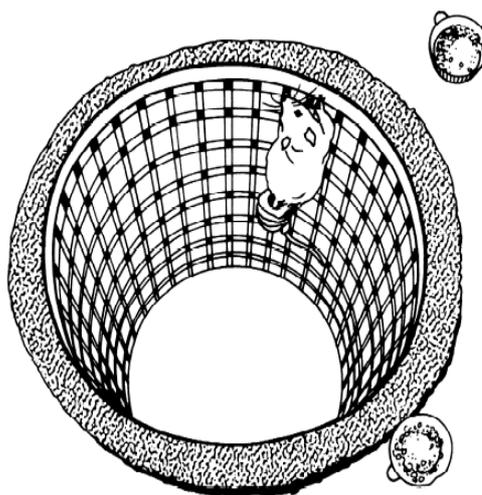
Nota: Temperatura da água mantida entre 30°C a 32 °C; Carga aderida ao tronco do rato; volume de água correspondente a 150% do comprimento corporal do animal.

Fonte: Souza *et al.* (2011).

Modelo voluntário com escalada em malha

O objetivo de Yarasheski *et al.*, (1990) em desenvolver um método de treinamento de força foi o de determinar a composição das fibras musculares em ratos jovens submetidos a treinamento de força de alta intensidade. Os pesquisadores adaptaram os ratos para escalar numa malha de 40 cm de altura, inclinada a 90° e usaram a recompensa alimentar como estímulo para a escalada. A adaptação consistiu em escalada sem carga alguma nos primeiros cinco dias, enquanto a altura da malha foi aumentada gradativamente de 10 cm até 40 cm. No 6º dia, os pesquisadores iniciaram o protocolo de treinamento e fixaram a carga na cauda dos animais, que escalaram a malha 20 vezes/dia, 5 dias/semana e tinham o alimento como recompensa no topo da malha. Quando chegavam ao topo, os ratos poderiam comer por 5 a 10 segundos e eram colocados de volta à base da malha para nova escalada e nova recompensa alimentar. A carga foi aumentada progressivamente, segundo a massa corporal dos animais nos primeiros 5 dias, para 60 g no sexto dia. Depois, acrescentaram 30g a cada 3 dias, como representado na figura 14. Os autores concluíram que esse modelo de treinamento de força de elevada intensidade promoveu hipertrofia e alterou a composição das fibras sarcoplasmáticas dos ratos jovens treinados.

Figura 14 - Modelo treinamento de força voluntário desenvolvido por Yarasheski et al., 1990



Nota: Malha com 40 cm de altura e alimento para rato em pó disponibilizado no topo da malha.

Fonte: Yarasheski *et al.* (1990).

Modelo voluntário com escalada em grade

Duncan; Williams; Lynch (1998) desenvolveram método para induzir ratos à hipertrofia de membros inferiores mediante adaptação, desenvolvido por Yarasheki *et al.* (1990). O aparato utilizado foi uma grade vertical, apresentando 40 cm de altura e composta por 54 degraus, feitos de arames de 5 mm de espessura e revestidos com plástico para a capacidade de escalada e segurança do animal (figura 15). Utilizaram a habilidade de escalada característica do roedor e não estímulo alimentar ou elétrico. Para adaptar os ratos ao treinamento, colocaram os animais na base da grade e os deixaram subir até o topo. A sessão consistiu de 15 escaladas sem carga alguma. Na segunda semana de treinamento, fixaram carga equivalente a 20% da massa corporal do rato na base da cauda e o volume de exercício realizado foi reduzido para uma sessão composta por 5 escaladas. Foi considerada uma repetição bem-sucedida quando o animal escalava da base ao topo da grade em 8 segundos. O volume de treino foi aumentado progressivamente a cada semana.

No final da segunda semana, os animais completaram duas séries de 8 repetições, ao passo que no final da terceira semana escalaram da base ao topo da grade em 3 segundos. Assim, a carga foi aumentada em 5% da massa corporal. O número de séries e repetições foram progressivamente aumentados até que os ratos conseguissem realizar uma sessão de treinamento diário composta por 4 séries de 12 a 15 repetições. Entre as séries, havia repouso de 2 minutos.

Figura 15 - Modelo voluntário de treinamento de força realizado em grade vertical



Nota: modelo de treinamento de força realizada em grade.

Fonte: Duncan *et al.* (1998).

Duncan *et al.* (1998) trazem como pontos limitantes aos modelos de treinamento até aqui desenvolvidos, considerando-os insuficientes para induzirem às respostas necessárias e de difícil execução, devido à complexidade do aparato desenvolvido para o treinamento: o desenho de TR designado para os ratos, a intensidade do treinamento insuficiente para induzir às respostas para elucidar questões vinculadas à força e hipertrofia, e tipo de estímulo inicial para levar o animal a iniciar o treinamento. São fatores que podem alterar a resposta de forma significativa.

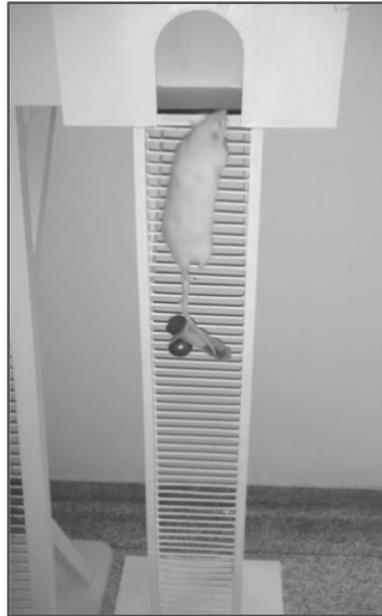
Modelo voluntário com escalada em escada

Hornberg e Farrar (2004) adaptaram o modelo de escalada em malha e grade com inclinação de 90° e desenvolveram o método de escalada em escada com inclinação a 80°. Os autores, a fim de mimetizar o treinamento de força muscular com aumento de carga progressiva, recomendado para aumento de AST em humanos (KRAEMER; RATAMESS, 2004), inseriram o intervalo entre as sessões de treinamento e usaram apenas a natureza do roedor para escalar.

O aparato desenvolvido foi uma escada com 1,1 X 0,18m, 2 cm de espaço entre os degraus e 80° de inclinação. A altura da escada induziu os ratos a realizarem cada escalada com 8 a 12 movimentos dinâmicos. Para adaptação ao protocolo de treinamento, os ratos tiveram o cone plástico para acréscimo da carga a ser carregada na parte proximal da cauda e receberam choque elétrico (< 0,3 mA) para iniciar a escalada. Havia uma gaiola (20 X 20 X 20 cm) localizada no topo da escada, onde os ratos descansavam por 2 minutos entre as escaladas. Esse procedimento foi repetido até que os ratos escalassem por 3 vezes consecutivas sem o estímulo do choque elétrico.

O treinamento foi realizado 3 vezes por semana, por 8 semanas. Cada sessão de treinamento foi composta por 4 a 9 escaladas completas (base ao topo). A carga foi fixada na cauda do animal e aumentada progressivamente em 30g, de acordo com o desempenho do animal (Figura 16).

Figura 16 - Modelo voluntário de treinamento de força em escada vertical inclinada a 80°



Nota: Imagem arquivo pessoal.

Fonte: Adaptado de Hornberg; Farrar, (2004).

O modelo de escalada em escada vem sendo adaptado por diversos pesquisadores de forma a adequar o treinamento ao questionamento de pesquisa a ser respondido. Schefer *et al.* (2012) adaptaram esse modelo para estudar estresse oxidativo, e desenvolveram escada com 43 degraus. O treinamento foi composto por 3 séries de 6 escaladas de 12 a 15 repetições. Ao término do experimento, concluíram que esse modelo é eficaz na indução da hipertrofia e força muscular, e eficaz para análise do estresse oxidativo em resposta ao treinamento. Consideraram ser um protocolo que responde com alterações significativas nos resultados, mediante realização de pequenas alterações, sendo esta observação um importante dado quanto a necessidade de parâmetros para o TR e suas variáveis aplicadas ao roedor.

Há considerável variedade de protocolos propostos para o estudo do desenvolvimento de força e hipertrofia muscular em ratos, caracterizando a responsabilidade do pesquisador em escolher um protocolo adequado ao seu objetivo, mediante domínio da técnica e conhecimento dos pontos positivos e negativos. Os protocolos empregados na escalada apresentam a vantagem do aproveitamento da inclinação natural em escalar do roedor, contornando estresse do estímulo elétrico ou adaptação ao ambiente aquático, e a redução na realização do treinamento, quando empregada a restrição seguida de recompensa alimentar.

Quadro 5 - Modelo animal de indução a hipertrofia treinamento de força voluntário

Autor	Ano	Animal	Método	Altura (cm)	Ângulo	Sessões semana	Séries /dia	Período
Yarashesk <i>et al.</i>	1990	Rato*	Escalada em malha com carga progressiva. Carga fixada na cauda.	40	90°	5	20	8 sem
Tamaki <i>et al.</i>	1992	Rato**	Agachamento em aparato específico e com estímulo elétrico	-	-	4	15	12 sem
Duncan <i>et al.</i>	1998	Rato**	Escalada em grade	40	Vertical	4	12 - 15	26 sem
Hornberger; Farrar. 2004	2004	Rato***	Escalada em escada	110	80°	3	1	8 sem
Schenffer <i>et al.</i>	2012	Rato**	Escalada em escada	110	80°	4	1	12 sem

Nota: Sem - semana. * Long Evans. ** Wistar. *** Sprague-Dawley

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Avaliar o efeito da dieta hiperproteica à base de proteínas do soro do leite na massa corporal, glicemia, perfil lipídico e no potencial ergogênico de ratos saudáveis submetidos ao treinamento de força por 12 semanas.

3.2 Objetivos específicos

Avaliar o efeito da dieta hiperproteica na massa corporal, no consumo alimentar e ingestão hídrica na semana 1, semana 6 e semana 12, e na eficiência alimentar dos ratos treinados e não treinados ao longo de 12 semanas.

Quantificar o acúmulo de gordura visceral e determinar o índice de adiposidade nos ratos submetidos ao protocolo de treinamento e ingestão das dietas experimentais.

Determinar a força muscular e a hipertrofia em resposta à ingestão de dieta hiperproteica e treinamento de força por 12 semanas.

Analisar o efeito da dieta hiperproteica no metabolismo da glicose na 6^a e 12^a semana de intervenção dietética e treinamento de força.

Verificar o impacto da dieta hiperproteica no perfil lipídico dos ratos treinados e não treinados após 12 semanas.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Animais

Estudo conduzido segundo regulamentações e guias éticas, Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009. Normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA). Aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais/CEUA da UFMS, sob registro nº 854/2017 (ANEXO A). Aprovação dentro de princípios internacionais, a exemplo do *International Principles for Biomedical Research Involving Animals* (CIOMS), Geneva/1985 e *Universal Declaration of Animal Rights* (UNESCO), Bruxelas – Bélgica/1978.

Foram utilizados vinte e oito ratos Wistar (*Rattus norvegicus albinus*) machos, originários do Setor de Criação do Biotério Central, unidade vinculada ao Instituto de Biociências da Fundação UFMS (INBIO/UFMS), e transferidos para o Setor de Experimentação. Nesse ambiente, foram mantidos em gaiolas coletivas de prolipropileno (55 X 40 X 20 cm), contendo entre dois a três animais sob condições controladas de temperatura ($22\pm 2^{\circ}\text{C}$), e ciclo de 12 horas claro e escuro invertido (de 8:00 às 20:00). Os animais apresentavam idade de 45 dias (adultos) e massa corporal (MC) média de $199,9 \pm 24,5\text{g}$. Utilizou-se ratos adultos para iniciar o experimento porque, nessa fase, o crescimento do roedor está encerrado, o que favoreceu o acompanhamento dos efeitos da dieta e treinamento.

Os animais receberam dieta e água *ad libitum* ao longo das 13 semanas experimentais. A primeira semana foi a de familiarização e coleta de dados iniciais (teste de tolerância à glicose, glicemia de jejum e avaliação de gordura visceral). As demais semanas foram as de intervenção dietética e treinamento de força. Houve óbito de um animal do grupo controle, sendo a causa provável o estresse inerente à execução do experimento.

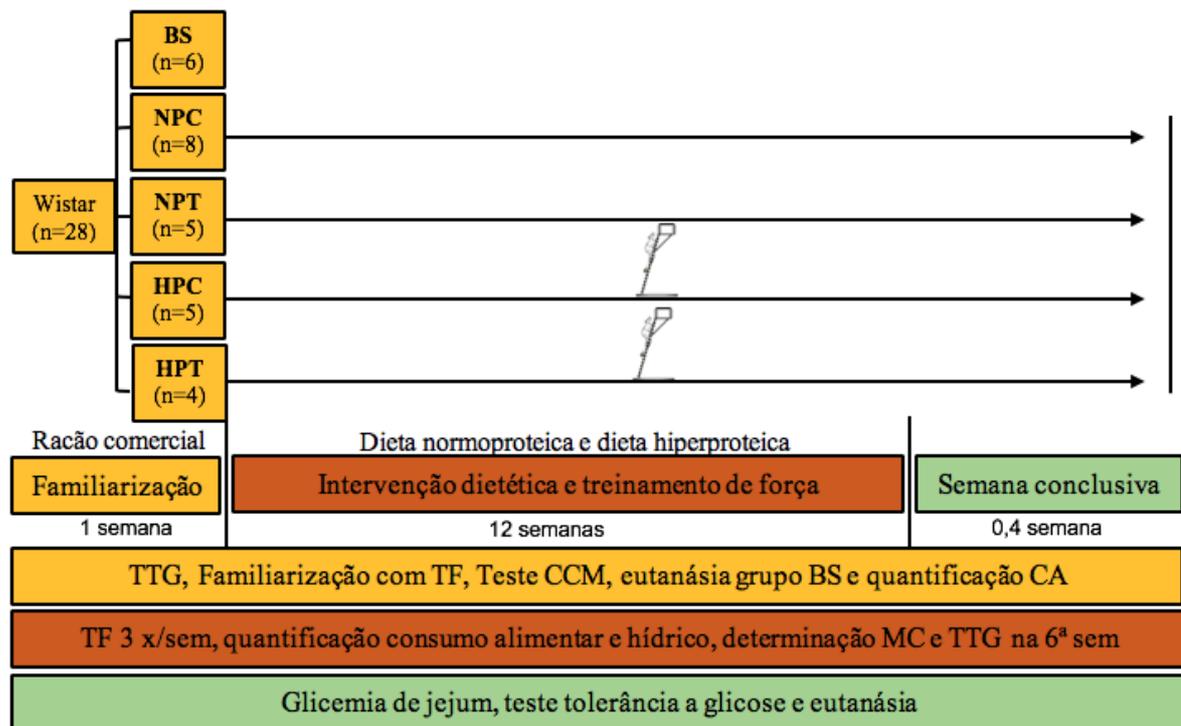
4.2 Delineamento experimental

Trata-se de experimento cego, randomizado e controlado. Os animais foram identificados por sorteio, alocados em cinco grupos experimentais, segundo o método SNOSE (*sequentially numbered opaque sealed envelopes*) (DOIG; SIMPSON, 2005), os quais foram nomeados de acordo com as intervenções experimentais.

- *Baseline* – BS (n=6)
- Normoproteico controle – NPC (n=8);
- Normoproteico submetidos a treinamento de força – NPT (n=5);
- Hiperproteico controle – HPC (n=5);
- Hiperproteico submetido a treinamento de força – HPT (n=4).

Todos os grupos receberam dietas manipuladas, segundo *American Institute of Nutrition* (AIN) (REEVES; NIELSEN; FAHEY, 1993). O treinamento de força adotado foi adaptado de Hornberger e Farrar (2004) e Marqueti *et al.*, (2017), conforme figura 17. Houve perda por morte, por causa espontânea, de um rato do grupo normoproteico controle na quinta semana de intervenção dietética e treinamento de força.

Figura 17 - Delineamento experimental



Nota – Experimento em modelo animal submetido a treinamento de força em escada. Dieta AIN-93M modificada. TF - Treinamento de força. MC - massa corporal. MMC - Carga de carregamento máximo. BS - Grupo *Baseline*. TTG - teste de tolerância à glicose. CA - consumo alimentar. NPC – grupo dieta normoproteica controle; HPC – grupo dieta hiperproteica controle; NPT – grupo dieta normoproteica submetidos a treinamento de força; HPT – Grupo dieta hiperproteica submetido a treinamento de força. A escada identifica os grupos submetidos ao TF.

4.3 Familiarização ao experimento

A semana de familiarização foi o período de ambientação dos animais com o experimento e pesquisadores. Consistiu do recebimento dos animais, randomização, identificação dos animais por sorteio e alocação nos grupos experimentais. A massa corporal de todos os ratos foi determinada, seguida de submissão a repouso de 24 horas.

Após o repouso, com os animais em jejum de 6 a 8 horas, realizou-se o teste de tolerância a glicose. Seguiu-se novo repouso de 24 horas e, então, os animais foram submetidos a sessão única de treinamento. Composta por três escaladas completas (da base ao topo da escada), sem carga e com repouso de 60 segundos entre as séries (escalada), na gaiola localizada no topo da escada (MARQUETI *et al.*, 2017). O comprimento da escada (1,1 x 0,18 m, espaço entre degraus 2 cm, inclinação de 80 °) induziu os ratos a realizarem de 6 a 16 movimentos dinâmicos por série.

Após a etapa de familiarização com o treinamento de força, os ratos descansaram por 24 horas, os grupos NPT e HPT foram submetidos ao teste incremental para determinação da carga de carregamento máximo (CCM), o qual consistiu de escalada inicial com carga correspondente a 75% da massa corporal (MC), depositada em tubo plástico cônico fixado com fita adesiva hospitalar na base proximal da cauda. Após primeira subida, seguiu-se com repouso de 120 segundos entre as séries e adição de 30 g a cada nova escalada completa. Procedimento repetido até o animal não conseguir completar escalada após três suaves pressões com pinça na extremidade final da cauda. A CCM foi determinada pela somatória das cargas adicionadas ao 75% da MC (HORNBERGER; FARRAR, 2004; MARQUETI *et al.*, 2017). Após a realização do teste incremental, os animais foram submetidos a 48 horas de descanso, e iniciaram-se as intervenções experimentais (dietas experimentais e TF).

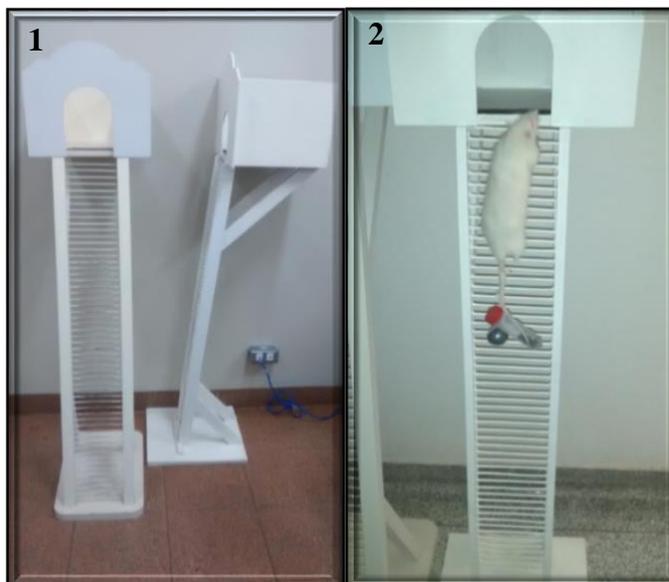
Ao longo dessa semana, a ração oferecida foi a padrão do biotério (Nuvilab®, Paraná, Brasil), o acesso ao alimento e água foi *ad libitum*.

4.4 Protocolo de treinamento de força

O TF foi realizado três vezes por semana (segunda, quarta e sexta), no período da tarde (a partir das 13 horas). Os animais escalavam cargas progressivas de 50%, 75%, 90% e 100% da CCM. Após a escalada com 100% da CCM, acrescentavam-se 30g a cada nova escalada completa (HORNBERGER; FARRAR, 2004). O procedimento foi repetido até o animal não

completar a escalada após estímulo nas patas traseiras ou leve pressão com pinça na extremidade final da cauda. O ajuste da CCM foi realizado ao término da semana. Ao final do experimento, novo teste para determinar CCM foi realizado (Figura 18).

Figura 18 - Rato em treinamento de força - modelo escalada em escada



Nota: arquivo pessoal. **18.1)** Escadas para treinamento em escada para ratos, segundo Hornberger; Farrar (2004). **18.2)** Rato em treinamento de força com carga fixada na porção proximal da cauda, adaptado de Marqueti *et al.* (2017).

4.5 Dietas experimentais

As dietas foram manipuladas segundo as recomendações nutricionais estabelecidas pelo *American Institute of Nutrition Rodent Diet* (REEVES, NIELSEN; FARREY, 1993) para roedores adultos (AIN-93M), as quais são normoproteicas. A dieta hiperproteica (AIN-93G) fornece as quantidades de nutrientes requeridas pelo roedor em fase de crescimento, gestação e aleitamento. Motivo pelo qual se optou por tornar a AIN-93M hiperproteica, pois se considerou a possibilidade da demanda nutricional da AIN-93G interferir nos resultados finais do experimento, visto que o presente estudo foi realizado com ratos adultos.

As rações foram produzidas na Unidade de Tecnologia de Alimentos e Saúde Pública da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UTASP/UFMS). Utilizou-se alimentos purificados Mix Nutri® (proteína do soro do leite concentrada a 80%, maltodextrina e microcelulose), e não-purificados (amido de milho - Qualimax, sacarose - DaBarra®, óleo de soja -Concórdia®) adquiridos em comércio local. Os micronutrientes AIN-93M-MX e AIN-

93-VX foram manipulados e adquiridos em empresa especializada em ração para roedores (Pragsolutions®).

Foram planejados e manipulados dois tipos de dietas: normoproteica e hiperproteica, ambos com mesmo valor energético total (VET). As normoproteicas (DNP) foram planejadas para fornecer 12 % de proteínas, e as hiperproteicas, 20% por quilo de ração produzida, a fim de atender aos objetivos do estudo - Figura 19.

Para a produção das dietas, optou-se por utensílios plásticos ao invés dos metálicos, para evitar reações químicas entre os nutrientes e os metais liberados pelo manejo característico da manipulação dos alimentos. Os ingredientes foram depositados em sequência decrescente de quantidades; a cada novo ingrediente, as farinhas eram misturadas com movimentos vigorosos e circulares. Para assegurar a dispersão homogênea dos alimentos com quantidades muito baixas (L- cistina, bitartarato de colina), separaram-se ~ 100g dos ingredientes secos já homogeneizados, procedeu-se à mistura em utensílio plástico menor, e só depois essa porção foi acrescentada aos ingredientes previamente homogeneizados. Seguiu-se com nova mistura vigorosa por, aproximadamente, 20 minutos. A Tert-butil-hidroquinona foi diluída em óleo de soja e acrescentada aos ingredientes secos homogeneizados.

Após acréscimo do óleo de soja, seguiu-se nova mistura com movimentos vigorosos e circulares, associados à quebra e esfrelamentos dos grumos formados. Ao apresentar-se homogênea, foi peneirada em peneira plástica, a fim de concluir a homogeneização dos ingredientes e deixar a farinha com textura fina. Usou-se água destilada em quantidade suficiente (10% a 20%) para deixar a massa formada na consistência necessária para formar os pellets.

As massas foram processadas em equipamento tipo moedor de carnes, de modo a dar forma aos pellets. Os cortes eram de 4 cm, os quais foram dispostos em bandejas de inox, colocados em estufa ventilada a 30 – 35° C por 78 horas, ou até alcançarem umidade máxima de 10%. A umidade era determinada de 2 a 3 vezes ao dia por equipamento infravermelho.

Figura 19 - Confeção das dietas experimentais, segundo preconizado para roedor adulto



Nota: 1) alimentos componentes pesados e porcionados; 2) Homogeneização dos alimentos secos; 3) Homogeneização dos ingredientes com óleo e água; 4) Formação dos pellets; 5) Pellets dispostos nas badejas de inox e colocados em estufa ventilada a 30° C. 6) Embalagem das rações para posterior armazenagem; 7) Dietas prontas e embaladas.

A caseína, alimento fonte de proteína preconizado por *Reeves et al.* (1993), foi substituída por proteína do soro do leite (PSL) concentrada a 80%. Para manter o valor nutricional determinado e assegurar dietas com mesmo VET, realizou-se adequação nas quantidades dos alimentos fontes dos nutrientes, com retirada dos excedentes (em gramas) do amido de milho, por ser o alimento de maior concentração (Tabela 2), seguida de redução do óleo de soja. Calculou-se a relação molar dos micronutrientes para avaliar a permanência da biodisponibilidade, pois não houve retirada de micronutrientes para compensar aqueles intrínsecos na PSL 80%.

A análise das dietas mostrou que a ração hiperproteica apresentou 9,39% menos amido de milho do que a ração normoproteica, e 10,40% a menos do que a dieta referência (AIN-93M). Em relação ao alimento fonte de proteína, a hiperproteica continha 10,25% mais PSL que a normoproteica, e 11,61% a mais do que a fonte proteica da AIN-93M. Quanto ao óleo de soja, a hiperproteica apresentou 0,8% menos óleo que a normoproteica, e 1,2% a menos do que a AIN-93M (Tabela 2).

Tabela 2 - Diferença em gramas e porcentagem entre ingredientes componentes da dieta AIN-93M e as dietas manipuladas na UTASP/UFMS, 2017

Componentes dietas	Descrição dietas experimentais					
	AIN-93M (g)	AIN-93M %	DNP (g)	DNP %	DHP (g)	DHP %
Amido de milho (g/kg dieta)	465,692	46,57	455,092	45,56	360,172	36,17
PSL - 80% proteína (g/kg dieta)	-	-	153,600	15,36	256,110	25,61
Caseína (>85% proteína) (g/kg dieta)	140,000	14,00	-	-	-	-
Amido dextrinizado (g/kg dieta)	155,000	15,50	-	-	-	-
Maltodextrina (g/kg dieta)	-	-	155,000	15,50	155,000	15,50
Sacarose (g/kg dieta)	100,000	10,00	100,000	10,00	100,000	10,00
Óleo de soja (g/kg dieta)	40,000	4,00	36,000	3,60	28,000	2,8
Fibras (g/kg dieta)	50,000	5,00	51,410	5,14	51,410	5,14
Mix mineral (AIN-93M-MX)	35,000	3,50	35,000	3,50	35,000	3,50
Mix vitamina (AIN-93-VX)	10,000	1,00	10,000	1,00	10,000	1,00
L-cistina (g/kg dieta)	1,800	0,18	1,800	0,18	1,800	0,18
Bitartarato de colina (g/kg dieta)	2,500	0,25	2,500	0,25	2,500	0,25
Tert. Butilhidroquinona (g/kg dieta)	0,008	0,01	0,008	0,01	0,008	0,01
TOTAL	1000	100	1000	100	1000	100

Nota: Dietas AIN-93M – *American Institute of Nutrition Rodent Diet*, 1993 (modificadas); NP – dieta normoproteica; HP – dieta hiperproteica; PSL-80% proteína do soro do leite concentrada a 80%. A diferença entre os valores somatórios de carboidratos é decorrente da retirada do amido de milho para compensar a diferença do excedente de outros alimentos, a fim de adequar o valor calórico e seguir a recomendação do protocolo em questão.

4.5.1 Composição físico-química das dietas experimentais

As análises físico-químicas das dietas foram realizadas no Laboratório de Físico-química da Unidade de Tecnologia de Alimentos e Saúde Pública (UTASP) da UFMS. As determinações foram realizadas em triplicatas, exceto a identificação e quantificação dos carboidratos, que foram em quadruplicatas. Todas as amostras foram pesadas em balança analítica para o porcionamento e análises subsequentes.

O pré-preparado da ração para realização das análises consistiu em submissão de 200g de cada tipo de dieta a moagem em moinho científico (Tecnal® - TE 7/7, Piracicaba/SP- Brasil). O processo foi feito em porções de 20g a 30g por vez, e só encerrado quando o alimento se apresentou na forma de pó fino. Após esse procedimento, as farinhas resultantes foram devidamente embaladas e armazenadas em refrigerador, tipo doméstico, a 4° C até o momento das análises.

4.5.1.2 Determinação da umidade

A umidade foi determinada por secagem direta em estufa (Estufa de Secagem e Esterilização Modelo 315 SE – FANEM®, São Paulo/SP - BRASIL) a 105°C por 24 horas (AOAC, 2009).

Cada amostra consistiu de, aproximadamente, três gramas, pesadas e colocadas em cápsulas de porcelanas previamente taradas, identificadas e manuseadas somente com pinça própria para esse procedimento.

As cápsulas com as amostras integrais foram colocadas para desidratação em estufa por 3 horas seguidas, retiradas com pinça e postas para resfriamento em dessecador com sílica por aproximadamente 30 minutos. Seguiu-se com determinação da massa amostral, que foi registrada até 4 dígitos após a vírgula. Após primeira pesagem, este procedimento foi repetido a cada 60 minutos até apresentarem constância na massa determinada (AOAC, 2009).

4.5.1.3 Resíduo mineral fixo

Os resíduos foram determinados por incineração mediante exposição da amostra (~ 3g) em cadinho no Bico de Bunsen, até o ponto de carbonização com ausência de fumaça, seguida de inserção na Mufla (GP Científica- Belo Horizonte/MG - Brasil) a 550°C por 8 horas.

Após resfriamento em dessecador com sílica em gel, a amostra foi pesada, registrou-se até 4 dígitos após a vírgula, e a diferença entre a amostra integral e o resíduo incinerado foi considerada o resíduo mineral fixo das dietas (LUTZ, 2008).

4.5.1.4 Determinação de proteínas

Realizou-se a determinação de proteínas segundo método de micro Kjeldhal (Destilador de Nitrogênio – TE 0364 – Tecnal®, Piracicaba/SP - Brasil) e fator de conversão de nitrogênio de 6,38 (AOAC, 2000).

As amostras foram pesadas (~ 90 mg) em tubos de micro Kjeldhal previamente identificados, acrescentaram-se 2g de substância catalítica, seguidos de 3 mL de ácido sulfúrico para realização do processo digestivo.

Após a digestão das amostras, estas foram destiladas de acordo com instrução constante para o uso do destilador.

4.5.1.5 Quantificação de lipídeos

Os lipídeos totais foram quantificados por extração a frio, segundo o método Bligh and Dyer (LUTZ, 2008).

As amostras (~2,5 g) foram pesadas dentro do tubo de ensaio adequado, mediante apoio em Erlenmeyer. O tubo foi vedado com fita veda rosca e seguiu-se o protocolo preconizado.

O período de repouso em refrigerador até a separação em camadas foi de, aproximadamente, 30 horas. Após esse período, procedeu-se segundo instrução do protocolo.

Realizou-se extração dos lipídeos a quente, por Soxhlet (SEBELIN TE – 188, Tecnal®, Piracicaba/SP - Brasil), a fim de preparar as amostras para análises dos carboidratos.

As amostras foram pesadas (~ 9 g), embaladas no papel filtro específico para inserção no tubo extrator de Soxhlet, e devidamente encaixadas no balão de fundo chato, previamente identificado e tarado. No sistema de aquecimento e resfriamento, as amostras ficaram em

contato com o éter de petróleo por 8 horas seguidas. Demais procedimentos seguiram o protocolo padronizado.

4.5.1.6 Determinação de carboidratos

Os carboidratos foram determinados pelo método adaptado de Lane-Eynon. A adaptação se fez necessária porque, após a hidrólise ácida, os polissacarídeos ficaram impregnados no papel filtro, o que alteraria o resultado final desse nutriente. Para impedir a perda da amostra, acrescentou-se o filtro como parte da amostra total e seguiu-se a metodologia preconizada.

Em paralelo, fez-se o mesmo procedimento com o papel filtro, do mesmo lote e embalagem utilizados para quantificação de polissacarídeos, a fim de identificar presença de destes. Os resultados mostraram ausência sua no papel filtro (ADOLFO LUTZ, 2008).

4.5.1.7 Valor energético total

O total de calorias (kcal) foi calculado utilizando-se os valores de proteínas – 4 kcal; lipídeos - 9 kcal, e carboidratos – 4 kcal (BRASIL, 2003). Tais valores eram os mesmos aplicados para dieta AIN-93M. Os resultados encontrados estão dispostos em base seca na tabela 3.

Tabela 3 - Composição química das dietas experimentais em g. kg⁻¹ de base seca

Componentes da dieta	DNP (g/Kg)	DNP (%)	DHP (g/Kg)	DHP (%)
Carboidrato total	634,7	70,5	570,2	62,7
Proteínas	152,8	17,0	237,8	26,1
Lipídeos	50,0	12,5	45,4	11,2
Energia (Kcal/Kg)	3.600,2	100	3.640,9	100
Energia (Kcal/g)	-	3,6	-	3,6

Nota: – DNP – dieta normoproteica; DHP – dieta hiperproteica.

4.6 Murinometria e medidas nutricionais

4.6.1 Monitoramento da massa corporal

Para o controle da MC e posterior avaliação das medidas murinométricas e nutricionais, os ratos foram pesados semanalmente em balança de precisão 0,01 com capacidade máxima de 1300g (Bel Engineering®, Monza/Milano - Itália).

O ganho de peso semanal foi determinado mediante diferença entre MC apresentada de uma semana para outra (MC semana atual - MC semana anterior). O ganho de MC total foi determinado mediante diferença entre MC final (determinada no dia anterior à eutanásia) e MC inicial (determinada no primeiro dia de intervenção dietética e de treinamento), conforme Figura 20.1.

4.6.2 Consumo alimentar

A ingestão de água e ração foi medida 03 vezes por semana (segunda, quarta e sexta-feira), a partir do início da semana de intervenção com dietas experimentais e TF, sempre no mesmo horário (13:00 – 14:30).

Para quantificar ingestão de água diária (IAD), utilizou-se proveta de polipropileno com graduação de 1mL (Figura 20.2); para pesar a ração, balança eletrônica de precisão com três casas após a vírgula (Marte® - AL 500C, São Paulo/SP - Brasil) - vide figura 20.3.

Figura 20 - Determinação da massa corporal, consumo alimentar e hídrico dos ratos ao longo de 12 semanas



Nota: 1) procedimento de pesagem realizado com animal dentro de utensílio plástico; 2) Água com volume medido e oferecida em bebedouros para posterior determinação de ingestão diária. 3) Ração pesada e disponibilizada no comedouro para livre consumo e posterior quantificação do consumo diário;

A IAD foi determinada após quantificação da água ofertada e subtração da sobra constante no bebedouro, seguida da divisão do número de dias (2 ou 3 dias) de consumo e pelo número de animais na gaiola (2 ou 3 ratos), demonstrada na equação 1.

A quantificação da ingestão diária de ração (g) foi semelhante: a sobra na gaiola foi subtraída da quantidade ofertada (massa amostral determinadas previamente), a diferença encontrada foi dividida pelo número de dias (2 ou 3 dias) e número de ratos constantes na gaiola (2 ou 3), conforme equação 2.

$$IAD = \frac{(AO - SA)}{D} \times R \quad (1)$$

IAD – Ingestão diária de água; AO – água ofertada; SA – sobra de água no bebedouro; D – número de dias e R número de ratos.

$$IRD = \frac{(RO - SR)}{D} \times R \quad (2)$$

IRD – ingestão ração de diária; RO – ração ofertada; SR – sobra de ração na gaiola; D – número de dias; R – número de ratos.

4.6.3 Eficiência alimentar

Para avaliar a capacidade do animal em converter a energia ingerida pela ração em MC (eficiência alimentar - EA), utilizou-se o coeficiente de eficácia alimentar (CEA) e o coeficiente do aumento de MC por consumo calórico diário (CGMCC), segundo ingestão de cada grupo experimental. O CEA é a relação entre a massa corporal ganha ao longo do experimento e a quantidade média de alimento ingerido por dia. O CGMCC é a relação entre a MC ganha ao longo do experimento e a quantidade de energia metabolizável fornecida pela ingestão diária (NERY *et al.*, 2011; NOVELLI *et al.*, 2007).

$$CEA = \frac{MCF - MCI}{IA} \quad (3)$$

CEA – coeficiente de eficácia alimentar (g), MCF: massa corporal final (g). MCI: massa corporal inicial (g). IA: média da ingestão alimentar diária ao longo do experimento (g).

$$CGMCC = \frac{MCF - MCI}{EI} \quad (4)$$

CGMCC – coeficiente de ganho de massa corporal por consumo calórico (g/Kcal). MCF: massa corporal final (g). MCI: massa corporal inicial (g). EI: Energia ingerida segundo a ingestão média diária ao longo do experimento (kcal).

4.7 Eutanásia, coleta amostra sanguínea e extração de tecidos

Para as eutanásias, os animais foram submetidos a jejum de 6 a 8 horas em gaiola metabólica, com restrição de alimento e oferta de água. A primeira ocorreu logo após o término da semana de familiarização, e a segunda ao final do experimento, quatro dias após última sessão de treinamento de força.

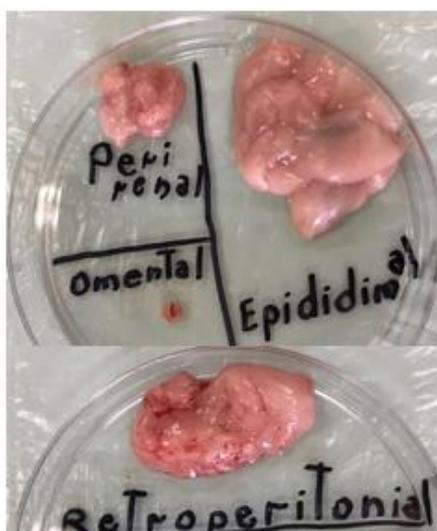
Os animais foram sedados com Ketamina - 0,6 mL/100g de MC, e xilazina - 0,3 mL/100g do MC, seguida de exanguinação pela veia cava. O sangue foi coletado e imediatamente centrifugado por 30 minutos, a 4500 rpm (Centribio®) para obtenção do soro, o qual foi aliquotado em criomicrotubos, mediantemente congelado em nitrogênio e armazenado a -80°C até o momento das análises.

Seguiu-se com dissecação dos sítios de gordura visceral (epididimal, mesentérica, perirrenal, retroperitoneal e omental), os quais foram pesados em balança de precisão 0,001g (Marte® - AL 500C, São Paulo/SP - Brasil), imediatamente congelados em nitrogênio e

armazenados em biofreezer (-80°C), conforme figura 21. Todos os valores foram expressos em gramas e o peso referente aos sítios de gordura foram utilizados para calcular o índice de adiposidade (IA), calculado de acordo com a equação 5 (LIMA-LEOPOLDO *et al.*, 2014). A somatória dos sítios foi considerada o valor da gordura visceral.

$$IA = \frac{\text{SOMA DOS SÍTIOS DE GORDURAS}}{\text{PESO FINAL}} \times 100 \quad (5)$$

Figura 21 - Imagens dos cinco sítios de gordura constantes na cavidade abdominal



Nota – Sítios de gorduras da cavidade abdominal: omental, perirrenal, epididimal e retroperitoneal. Fotos de arquivo pessoal.

4.8 Análises bioquímicas

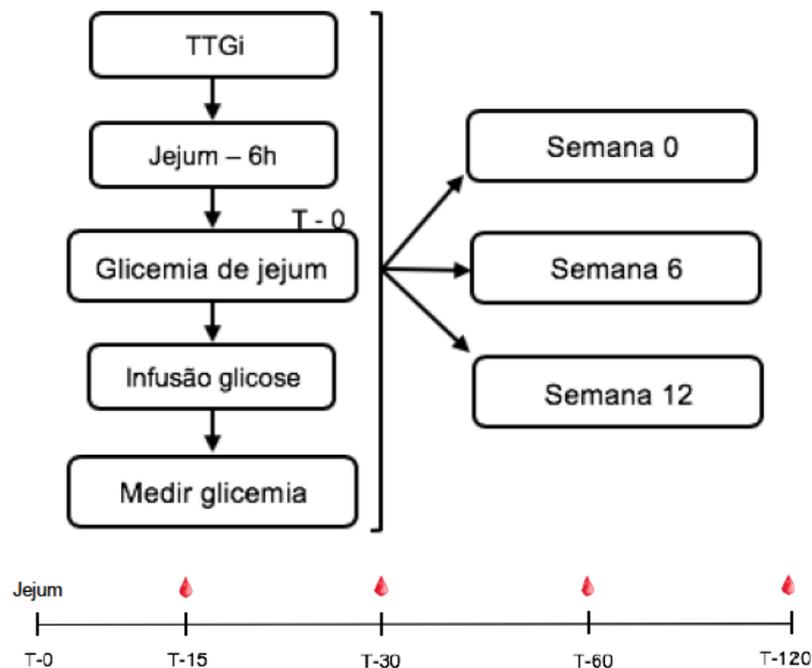
4.8.1 Glicemia de jejum (GJ) e teste de tolerância a glicose intraperitoneal (TTGI)

Todos os animais foram submetidos a jejum de 6 a 8 horas em gaiola metabólica, para posterior determinação da glicemia de jejum via caudal (T-0). Seguiu-se com infusão de glicose 50% (Samtec – Biotecnologia, Ribeirão Preto/SP - Brasil) intraperitonealmente (2 g/Kg de massa corporal), e tomada de medidas glicêmicas nos minutos subsequentes (15, 30, 60 e 120) (BATISTA *et al.*, 2013). Foram realizados três TTGI; o primeiro (Sem 0) foi ao término da semana de familiarização. O segundo TTGI foi na sexta semana de intervenção dietética e treinamento (Sem 6). Na décima segunda semana (Sem 12), ocorreu vinte horas após última

sessão de treinamento o Terceiro TTGI, (Figura 23). Os testes foram realizados no período da manhã.

A determinação da glicemia foi realizada utilizando-se glicosímetro portátil (Accu-Check® Advantage, Roche, Brasil).

Figura 22 - Teste de tolerância à glicose intraperitoneal realizado em três momentos experimentais



Nota: TTGI – teste de tolerância à glicose realizado em 3 momentos diferentes. A glicemia de jejum foi determinada (tempo 0), seguida de infusão de glicose (50% - 2g/Kg de massa corpórea) intraperitonealmente e de subsequentes determinações da glicemia nos tempos 15, 30, 60 e 120 minutos, após infusão da glicose.

4.8.2 Perfil lipídico

As análises séricas para determinar o perfil lipídico foram realizadas no Laboratório de Purificação de Proteínas e Suas Funções Biológicas (LPPFB) da UFMS, pelo método enzimático-colorimétrico (Kit Gold Analisa® - Belo Horizonte/MG - Brasil), segundo o protocolo determinado pelo Kit em questão. Para a leitura, utilizou-se espectrofotômetro (Evolution 300 UV-VIS, Thermo Scientific - Barueri/SP – Brasil), com comprimento de ondas em 505 nm. Para o LDL-c e VLDL-c utilizou-se a equação de Friedewald - equações 6 e 7, respectivamente.

$$\text{LDL-c} = \frac{\text{Colesterol Total} - (\text{HDL-c} + \text{VLDL-c})}{5} \quad (6)$$

$$\text{VLDL-c} = \frac{\text{Triglicerídeos}}{5} \quad (7)$$

4.10 Análise estatística

A normalidade dos dados foi testada por meio de Shapiro-Wilk. Realizaram-se análises estatísticas de variância (*One-Way ou Two-Way*, conforme as variáveis, e *t-student* - composição dietas experimentais), foram aplicadas a fim de verificar diferenças entre os grupos, com utilização de *post hoc* de Bonferroni para todos eles. O *power* amostral foi considerado suficiente ao ter alcançado um mínimo de 0,80. O valor de significância adotado pelo presente estudo foi de $p < 0.05$. Todas as análises foram realizadas Prisma 5 para Mac.

5 RESULTADOS

5.1 Caracterização Físico química das dietas experimentais

A composição química das dietas normoproteica e hiperproteica, descrita na tabela 4, mostra que a umidade na dieta DNP foi de 9,83%, e a da dieta hiperproteica foi de 9,53%. Em relação à umidade, a DNP apresentou porcentagem 0,3% maior que a DHP, denotando baixo potencial em alterar a quantidade total de ração ingerida pelos ratos.

Em relação à quantidade de energia (kcal) fornecida pelos carboidratos e pelos lipídeos, os resultados evidenciaram que não houve diferença significativa entre as dietas ($p = 0,2292$ e $p = 0,9090$, respectivamente). Ao comparar os resultados apresentados pelas proteínas, observou-se que a quantidade de energia fornecida pelas proteínas foi significativamente superior na DHP quando comparada a DNP ($p = 0,0001$) (Tabela 4).

Tabela 4 - Determinação da composição dos macronutrientes e densidade energética das dietas experimentais em base seca

Componentes	Dietas experimentais			
	DNP		DHP	
	g/Kg dieta	Kcal (%)	g/Kg dieta	Kcal (%)
Carboidrato total	634,7±1,9	70,6	570,2±1,7	62,7
Monossacarídeos*	36,4±0,0	5,7	33,6±0,1	5,9
Dissacarídeos*	135,1±0,7	21,3	136,2±0,7	23,9
Polissacarídeos*	463,1±1,2	73,0	400,4±1,0	70,2
Proteínas	152,1±1,1 ^a	16,9	238,4±0,2 ^a	26,1
Lipídeos	50,0±0,1	12,5	45,4±0,6	11,2
Fibras	139,9	-	115,1	-
Resíduo mineral fixo**	33,4±0,5	-	31,2±0,1	-
Energia (Kcal/Kg)	3.600,2	100	3.643,0	100
Energia (kcal/g)	3,6	-	3,6	-

Nota: Os resultados estão expressos em média e desvio padrão, exceto as fibras por terem sido determinadas por diferença em 100g de nutrientes (carboidratos, proteínas, lipídeos, resíduo mineral fixo e umidade). A letra (a) indica diferença significativa entre os macronutrientes. * valores em percentuais referentes ao carboidrato total. ** Utilizou-se as recomendações de micronutrientes preconizados pela AIN-93M; o Mix mineral (AIN-93M-MX) contém 7,34 g de sacarose e o Mix de vitaminas (AIN-93M-VX) contém 9,75 g de sacarose em pó. Ambos valores foram contabilizados no carboidrato total. DNP – dieta normoproteica; DHP – dieta hiperproteica.

5.2 Murinometria e medidas nutricionais

5.2.1 Massa corporal (MC)

Conforme valores dispostos na tabela 5, a evolução da MC evidenciou interação dieta*treinamento ($F=4,694$ $p<0,0001$), com efeito do grupo ($F=7,098$ $p=0,0003$) e do momento ($F=447,6$ $p<0,0001$).

Ao comparar os resultados dos grupos na semana de familiarização (Sem 0), observou-se que o grupo NPT apresentou maior MC que seus pares ($p < 0,05$). Enquanto os resultados da semana 1 (Sem 1) evidenciaram MC homogênea no início das intervenções experimentais ($p < 0,05$). Indicando que os procedimentos realizados na semana de familiarização favoreceram a uniformidade na MC encontrada nos grupos.

A análise dos resultados da semana 6 (Sem 6), mostrou que todos os grupos apresentaram aumento na MC, sem que houvesse diferença significativa entre os grupos ($p < 0,05$).

Na semana 12 (Sem 12), houve aumento da MC em todos os grupos e, ao realizar a comparação entre eles, observou-se que os grupos submetidos ao treinamento apresentaram menor MC que os grupos controle ($p < 0,05$), exceto o grupo NPC, que não se diferenciou do NPT ($p > 0,05$).

O delta da MC da sem1 e final (período de intervenção dieta*treinamento), mostrou interação da intervenção no grupo ($F = 6,169$ $p = 0,0050$). A comparação dos resultados apresentados entre os grupos mostrou que o grupo HPT ganhou menos MC (em gramas) do que os grupos não treinados ($p < 0,05$) (Tabela 7).

5.2.2 Consumo alimentar semanal

Conforme disposto na tabela 5, houve interação dieta*treinamento no consumo alimentar (CA) ($F = 2,842$, $p = 0,067$), com efeito no grupo ($F = 21,77$ $p < 0,001$) e momento ($F = 57,16$ $p < 0,0001$).

Na Sem 0, observou-se que enquanto os grupos ingeriam ração comercial, havia maior ingestão alimentar por parte do grupo HPC do que pelo NPC ($p < 0,05$). Contudo, os resultados da sem1 mostraram que as intervenções experimentais promoveram uniformidade no consumo de ração entre todos os grupos ($p > 0,05$).

A análise dos resultados da Sem 6 evidenciaram que o grupo HPC ingeriu maior quantidade de ração que seus pares ($p < 0,05$), enquanto os resultados encontrados na Sem 12 evidenciaram menor consumo alimentar nos grupos submetidos a TF ($p < 0,05$).

Tabela 5 - Resultados massa corporal e consumo alimentar determinados em diferentes momentos em 12 semanas de experimento

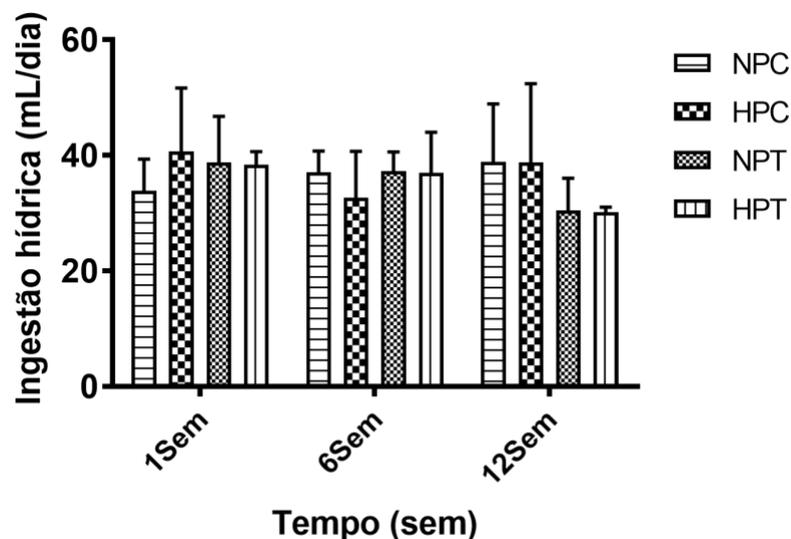
Resultados		Sem 0	Sem 1	Sem 6	Sem 12	Grupo	Tempo	Dieta*treinamento	
CA (g/sem) ¹	NPC	20,4±1,2 ^a	18,0±0,7	20,0±1,3	21,1±0,3 ^{a b}	21,77 <0,0001	57,16 <0,0001	2,842 0,0067	F <i>p</i>
	HPC	23,1±0,7 ^a	18,6±0,0	21,7±1,2 ^{a b}	21,2±0,2 ^{c d}				
	NPT	21,7±0,5	17,6±0,6	19,3±2,5 ^a	19,2±0,1 ^{a c}				
	HPT	21,3±0,3	16,7±0,0	19,1±0,9 ^b	18,2±0,2 ^{b d}				
MC (g) ¹	NPC	200,0±26,2 ^a	209,3±12,7	335,3±16,8	419,2±32,2 ^a	7,098 0,0003	447,6 <0,0001	4,694 <0,0001	F <i>p</i>
	HPC	193,6±30,6 ^b	217,2±12,5	362,4±21,5	440,8±27,2 ^{b c}				
	NPT	243,7±14,7 ^{a b c}	215,9±15,3	326,4±17,1	395,3±12,6 ^b				
	HPT	188,3±3,6 ^c	213,7±5,6	319,2±14,7	375,8±30,6 ^{a c}				

Nota: valores expressos em média e desvio padrão. Significância estatística $p < 0,05$. O número 1 indica que houve interação entre dieta*treinamento, efeito nos grupos e nos momentos experimentais dispostos nas linhas. Entre as colunas, as letras iguais representam diferença estatística na comparação entre os grupos. MC - massa corporal; CA – consumo alimentar; NPC – grupo dieta normoproteica controle; HPC – grupo dieta hiperproteica controle; NPT – grupo dieta normoproteica submetidos a treinamento de força; HPT – Grupo dieta hiperproteica submetidos a treinamento de força.

5.2.3 Ingestão hídrica

Os resultados da ingestão hídrica mostraram que não houve interação das intervenções dietéticas e TF ($F = 1,487$ $p = 0,2013$), e que não houve efeito no grupo ($F = 0,2687$ $p = 0,847$) ou no momento ($F = 0,9875$ $p = 0,3795$) (Figura 23). Provavelmente, não houve maior excreção de nitrogênio urinário em resposta à dieta hiperproteica.

Figura 23 - Ingestão hídrica determinada ao longo do experimento



Nota: valores expressos em média \pm DP. Não houve diferença estatística ($p > 0,05$) quanto ao consumo de água entre os grupos nem nos diferentes momentos dos experimentos. NPC – grupo dieta normoproteica controle; HPC – grupo dieta hiperproteica controle; NPT – grupo dieta normoproteica submetidos a treinamento de força; HPT – Grupo dieta hiperproteica submetidos a treinamento de força.

5.2.4 Consumo alimentar diário e eficiência alimentar

Para análise do consumo alimentar diário (CAD), considerou-se o estado integral da ração (presença da umidade) (Tabela 6).

A análise dos resultados evidenciou interação dieta e treinamento no consumo alimentar diário ($F = 12,62$ $p = 0,0002$). A comparação entre os grupos mostrou que o HPC ingeriu maior quantidade de ração que os grupos treinados ($p < 0,005$). Por outro lado, o grupo NPC apresentou maior CAD quando comparado com o grupo HPT ($p < 0,05$); resultados esses semelhantes aos apresentados pelos CA da Sem 12. Também parecidos foram os resultados encontrados ao analisar a energia ingerida diariamente. Houve interação no grupo ($F = 12,59$ p

= 0,0002). A comparação entre os grupos mostrou maior ingestão calórica pelo grupo HPC que os grupos submetidos a treinamento ($p < 0,05$). O NPC, por sua vez, ingeriu mais energia que o HPT ($p < 0,05$).

A dieta normoproteica, analisada em base úmida, forneceu 3,3 Kcal/g (2,3 Kcal/g de carboidratos; 0,6 Kcal/g de proteínas e 0,4 kcal/g de lipídeos). Dieta hiperproteica forneceu 3,3 Kcal (2,1 Kcal/g de carboidratos; 0,9 Kcal/g de proteínas e 0,4 Kcal/g de lipídeos). A ausência de diferença no VET entre as dietas demonstra que a diferença apresentada no consumo energético diário está relacionada à quantidade em gramas de ração ingerida pelos animais.

Quanto à eficiência alimentar (Tabela 6), a análise dos resultados apresentados pelo CEA indicaram interação dieta e treinamento de força na capacidade do animal em transformar o alimento ingerido em MC ($F = 16,34$ $p = 0,0001$). No entanto, não houve efeito na capacidade dos animais em transformar a energia metabolizável em MC ($F = 2,417$ $p = 0,1042$). Ao comparar os resultados apresentados entre os grupos, observou-se que o NPC foi o que apresentou maior condição de transformar o alimento ingerido em gramas em MC ($p < 0,05$).

Tabela 6 - Consumo alimentar diário em gramas e macronutrientes em quilocalorias; análise realizada em base úmida; resultados evidenciados pelas medidas nutricionais, gordura visceral e índice de adiposidade

Dados analisados	Grupos experimentais			
	NPC	HPC	NPT	HPT
Δ MC semana 1 e final (g) ⁰	216,6±36,2 ^b	229,6±18,4 ^a	180,5±10,2	164,7±28,8 ^{ab}
Consumo diário (g) ^{\$}	20,1±0,4 ^a	20,9±0,1 ^{b c}	19,5±0,5 ^b	18,6±1,0 ^{a c}
Energia (Kcal/dia) ^{&}	65,4±1,4 ^a	68,6±0,4 ^{b c}	63,3±1,6 ^b	61,2±2,8 ^{a c}
Carboidratos (Kcal/dia)	46,0±1,9	42,9±1,7	44,6±1,9	38,4±1,7
Proteínas (Kcal/dia)	11,1±1,1	17,9±0,2	10,6±1,1	16,0±0,2
Lipídios (Kcal/dia)	8,2±0,1	7,7±0,6	7,9±0,1	6,9±0,6
CEA (g) ¹	11,3±1,7 ^{abc}	11,9±0,8 ^a	8,1±0,5 ^b	10,2±1,7 ^c
CGMCC (g/kcal) ²	3,2±0,6	3,4±0,3	2,9±0,2	2,7±0,4
GV pré-intervenção (g) ³	3,7±0,8	3,7±0,8	3,7±0,8	3,7±0,8
GV pós-intervenção (g) ³	22,7±4,6 ^a	30,5±7,6 ^{a b c}	20,6±3,2 ^b	20,2±4,0 ^c
IA pré-intervenção (%) ⁴	2,0±0,3	2,0±0,3	2,0±0,3	2,0±0,3
IA pós-intervenção (%) ⁴	5,5±1,3	6,8±1,3	5,2±0,9	5,4±1,3

Nota: valores expressos em média ± DP. Significância estatística $p < 0,05$. Letras iguais na mesma linha indicam diferença estatística significativa entre os grupos. **\$**) Efeito intervenção no grupo ($F = 12,62$ $p = 0,0002$). **&**) Efeito intervenção no grupo ($F = 12,59$ $p = 0,0002$). **(0)** Efeito intervenção no grupo ($F = 6,169$ $p = 0,0050$). **1)** Efeito intervenção no grupo ($F = 16,34$ $p < 0,0001$). **2)** Não houve efeito no grupo ($F = 2,417$ $p < 0,1042$). **3)** Interação dieta*treinamento ($F=4,804$ $p < 0,0063$), efeito no grupo ($F = 4,804$ $p < 0,0063$) e momento ($F = 331,2$ $p < 0,0001$). **4)** Efeito do momento ($F = 199,8$ $p < 0,0001$). MC - massa corporal. CEA - coeficiente eficácia alimentar; CGMCC - coeficiente de ganho de massa corporal por consumo de calorías. GV - Gordura visceral; IA - índice de adiposidade; NPC - grupo dieta normoproteica controle; HPC - grupo dieta hiperproteica controle; NPT - grupo dieta normoproteica submetido a treinamento de força; HPT - Grupo dieta hiperproteica submetido a treinamento de força.

5.2.5 Gordura visceral e índice de adiposidade

A gordura visceral (GV) evidenciou interação entre dieta e TF no acúmulo de GV ($F=4,804$, $p=0,0063$); houve efeito no grupo ($F=4,804$, $p=0,0063$) e momento ($F=331,2$; $p<0,0001$). A comparação dos resultados encontrados entre os grupos mostrou que o HPC apresentou maior concentração de gordura na cavidade abdominal que seus pares ($p < 0,05$) (Tabela 6).

Em relação ao IA, observou-se efeito do momento ($F=199,8$ $p<0,0001$), todos os grupos apresentaram maior IA no final do experimento. Contudo, sem diferença significativa entre os grupos ($p>0,05$) - vide Tabela 6.

5.4 Força máxima e força relativa

Ao analisar os resultados da força máxima, constatou-se efeito do momento no aumento da força muscular ($F=176,6$ $p < 0,0001$). No entanto, não houve interação dieta*treinamento ($F = 0,0518$ $p = 0,0846$) e não houve efeito no grupo. Apesar da diferença entre os grupos não ter sido significativa, os valores absolutos mostraram que, após 12 semanas de treinamento, o aumento da força muscular apresentada pelo grupo NPT foi de 293,7%, enquanto a magnitude de força do HPT aumentou em 379,7%. Esses dados mostram que o HPT carregou 86% mais carga do que o NPT, valor significativo para um roedor. Sugerindo que, apesar da ausência de significância estatística, a carga carregada pode ter sido significativa para o tamanho e massa corporal do rato (Tabela 9).

Em relação à carga relativa, houve diferença significativa entre os momentos pré e pós intervenção ($F=51,39$ $p<0,0001$). No entanto, não houve interação Dieta*treinamento e não houve efeito no grupo. Semelhantemente à força máxima, os valores absolutos da carga relativa mostraram que o grupo NPT aumentou a força muscular por grama de MC em 159,8%, e grupo HPT aumentou em 215,2%; diferença de 55,4% que pode ser significativa para um roedor (Tabela 7).

Tabela 7 - Resultados força máxima e força relativa ao longo das 12 semanas experimentais

Resultados		Sem 1	Sem 12	%	p		
					Grupo	Tempo	Dieta*treinamento
Força máxima (g) ¹	NPT	252,8±46,6	740,9±138,2	293,7	-	-	-
	HPT	241,0±75,5	915,00±74,9	379,7	0,0846	<0,0001	0,0518
Força relativa (CCM/MC) ¹	NPT	1,2±0,3	1,9±0,3	159,8			
	HPT	1,1±0,2	2,4±0,4	215,2	0,0993	<0,0001	0,0518

Nota: valores expressos em média e desvio padrão. Letras iguais na mesma coluna indicam diferença significativa entre os grupos. 1) Interação de intervenções experimentais no fator tempo. CCM - carga de carregamento máximo. MC - massa corporal. NPT – grupo dieta normoproteica submetidos a treinamento de força; HPT – Grupo dieta hiperproteica submetidos a treinamento de força.

5.5 Parâmetros bioquímicos

5.5.1 Perfil lipídico

Quanto ao perfil lipídico, ao comparar a concentração de triglicerídeos entre os momentos inicial e final, constatou-se interação da dieta e treinamento ($F = 5,591$ $p = 0,0032$); houve efeito do grupo ($F = 5,591$ $p = 0,0032$) e do momento ($F = 27,35$ $p < 0,0001$). No momento inicial, não houve diferença significativa entre os grupos ($p > 0,05$). No momento final, a comparação entre os grupos apontou para menor concentração de triglicerídeos no soro do grupo HPT quando comparado aos seus pares, indicando diferença significativa ($p < 0,05$) - Figura 24 A.

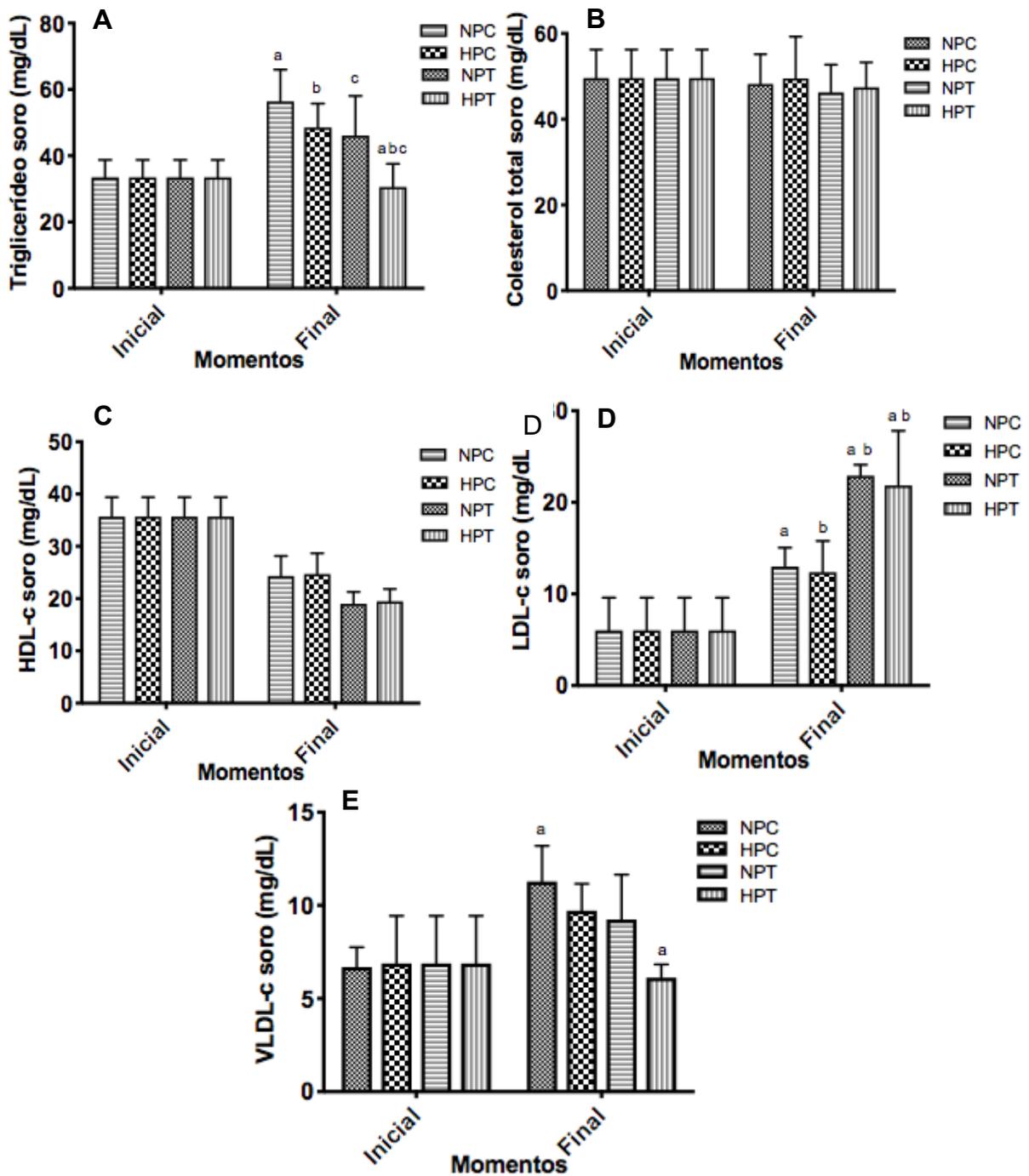
Quanto ao colesterol total, os resultados apontaram para ausência de interação dietas e treinamento ($F = 0,1022$ $p = 0,9582$), não houve efeito nos grupos ($F = 0,1022$ $p = 0,9582$), assim como não houve efeito entre os momentos ($F = 0,6759$ $p = 0,4166$) (Figura 24 B).

Os resultados do HDL-c evidenciaram efeito do momento ($F = 171,3$ $p < 0,0001$), com redução na concentração de HDL-c no soro ao final do experimento, sem que houvesse diferença significativa entre os grupos, conforme figura 24 C.

As análises do LDL-c evidenciaram interação da dieta e treinamento sobre a concentração de LDL-c no soro ($F = 14,64$ $p < 0,0001$); efeito do grupo ($F = 14,64$ $p < 0,0001$) e momento ($F = 217,8$ $p < 0,0001$). Após 12 semanas, os resultados apontaram para aumento no nível de LDL-c no soro de todos os animais, com maior elevação nos grupos submetidos a treinamento de força ($p < 0,05$), conforme figura 24 D.

Em relação ao VLDL-c, observou-se efeito do momento ($F = 9,535$ $p = 0,0040$). O grupo HPT concluiu a fase experimental com nível de VLDL-c equiparável ao valor inicial, com diferença significativa quando comparado com os resultados do grupo NPC ($P < 0,05$), disposto na Figura 24 E.

Figura 24 - Perfil lipídico

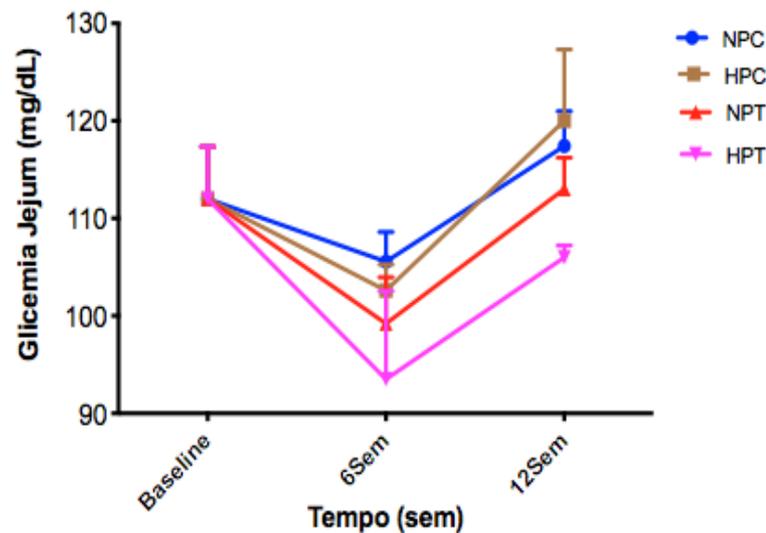


Nota: Dados apresentados em média e desvio padrão. Letras iguais indicam comparação entre os grupos com diferença significativa. $p < 0,05$. **A**) Interação dieta*treinamento ($F = 5,591$ $p = 0,0032$), entre grupos ($F = 5,591$ $p = 0,0032$) e entre momentos ($F = 27,35$ $p < 0,0001$). **B**) Não houve interação dieta*treinamento. **C**) Efeito dieta*treinamento entre os momentos ($F=171,3$ $p<0,0001$). **D**) Interação dieta*treinamento ($F = 14,64$ $p = 0,0001$), entre grupos ($F = 14,64$ $p = 0,0001$) e momentos ($F = 217,8$ $p = 0,0001$). **E**) Efeito do momento ($F = 9,535$ $p < 0,0040$). NPC- grupo com ingestão de dieta normoproteica controle. HPC- grupo com ingestão de dieta hiperproteica controle. NPT – Grupo com ingestão de dieta normoproteica submetido a treinamento de força. HPT – grupo com ingestão de dieta hiperproteica submetido a treinamento de força.

5.5.2 Glicemia de jejum

A análises dos resultados da glicemia de jejum indicaram efeito das variáveis dieta e treinamento nos momentos experimentais ($F = 8,825$ $p = 0,0005$). Os resultados mostraram redução da glicemia na sem 6, seguido de retorno aos valores apresentados pelo grupo *Baseline* na Sem 12. No entanto, não houve diferença significativa entre os grupos ($p > 0,05$) - Figura 25.

Figura 25 - Glicemia de jejum determinada em diferentes momentos diferentes do experimento



Nota - valores apresentados em média e desvio padrão. Efeito do momento ($F = 8,825$ $p = 0,0005$). NPC – grupo dieta normoproteica controle; HPC – grupo dieta hiperproteica controle; NPT – grupo dieta normoproteica submetidos a treinamento de força; HPT – Grupo dieta hiperproteica submetidos a treinamento de força.

5.5.3 Parâmetro bioquímico da glicose sanguínea - TTGI

Conforme disposto na figura 26 A, os resultados do TTGI realizado na Sem 6 apontaram para interação das variáveis dietas e treinamento ($F = 2,451$ $p = 0,0033$), com efeito do grupo ($F = 5,710$ $p = 0,0033$) e momento ($F = 43,67$ $p < 0,0001$). Durante o TTGI, os grupos alcançaram o pico glicêmico aos 15 minutos, exceto o grupo NPC, o qual alcançou o pico máximo aos 30 minutos após infusão da glicose. Ao comparar o pico glicêmico entre os grupos, observou-se que, aos 15 minutos, o grupo HPT alcançou maior pico do que os grupos *Baseline* e o HPC ($p < 0,05$). Enquanto a comparação dos resultados entre os grupos NPC vs. HPC

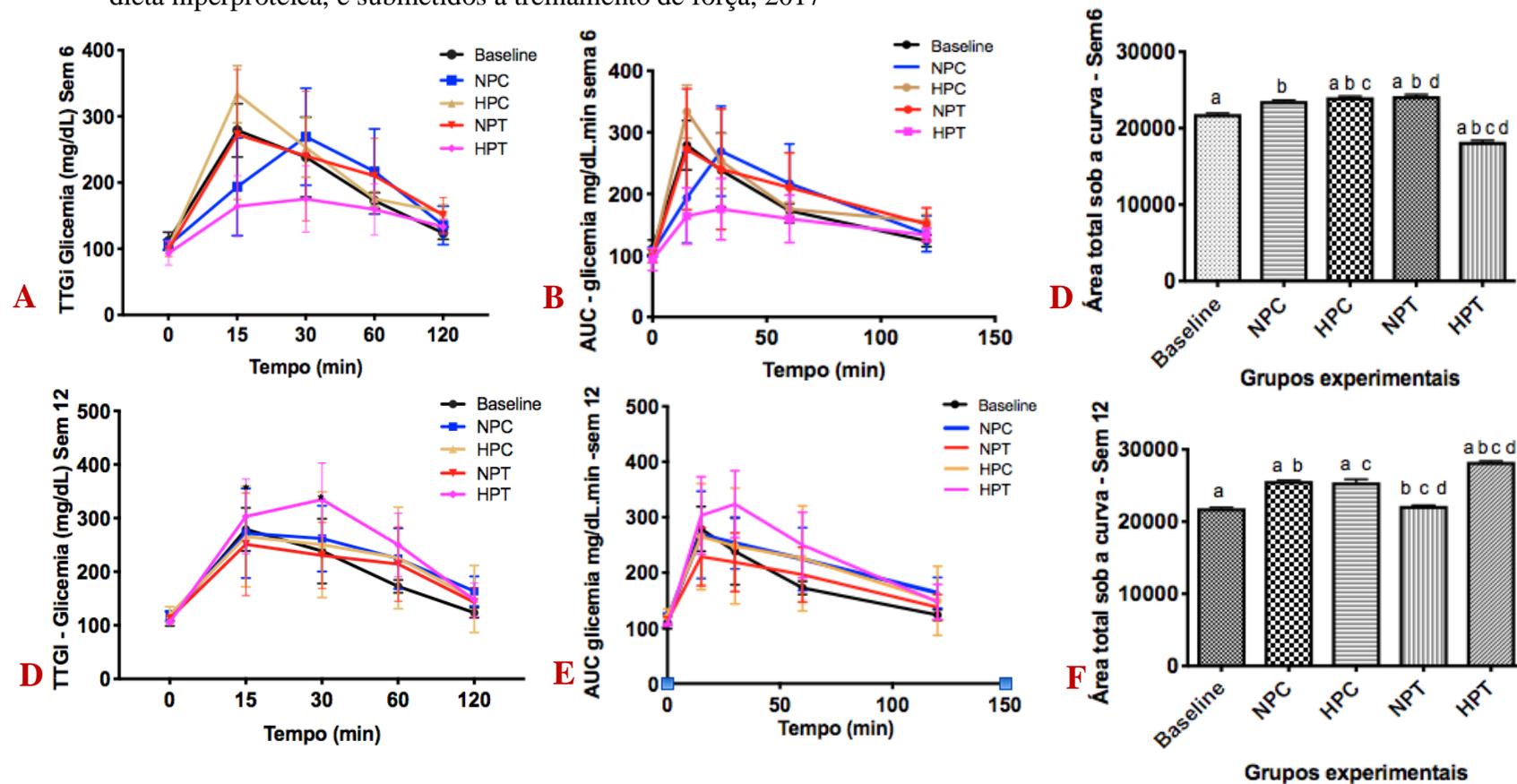
apontou para maior pico glicêmico no HPC ($p < 0,05$). Não houve diferença significativa entre os picos glicêmicos apresentados pelos grupos nos demais tempos determinados ($p > 0,05$).

A análise da glicemia realizada pela área sob a curva (AUC), com concentração de glicose no sangue em 120 minutos, evidenciou que o grupo NPT apresentou maior concentração glicêmica (24228), seguido dos grupos HPC (24018) e NPC (23574), enquanto a área sob a curva do HPT foi de 1828. O *Baseline*, grupo referencial, por sua vez, apresentou área sob a curva de 21872, (Figura 26.B). Análise por ANOVA *one way* da AUC apontou para efeito da dieta e treinamento no grupo ($F = 967,8$ $p < 0,0001$). A comparação entre os grupos evidenciou que o grupo HPT apresentou menor glicemia que os demais ($p < 0,05$); os grupos HPC e NPT apresentaram maior glicemia que o *Baseline* ($p < 0,05$) e o NPC mostrou menor glicemia que os grupos HPC e NPT ($p < 0,05$), demonstrado na Figura 26 C.

Quanto às análises do TTGI realizadas na semana 12, observou-se efeito do momento ($F = 40,19$ $p < 0,0001$). Exceto o grupo HPT, os grupos alcançaram o pico glicêmico aos 15 minutos. No entanto, sem diferença significativa entre os demais grupos ao longo dos tempos em que a glicemia foi determinada ($p > 0,05$) - Figura 26.D. Os resultados analisados pela AUC apontaram para concentração glicêmica em 120 minutos no grupo HPT (28298), seguido dos valores do NPC, que apresentou área de 25627; HPC com área de 25095. O grupo NPT apresentou área de 22182, enquanto o *Baseline*, grupo referencial, área de 21872 (Figura 26.E).

Os resultados da área sob a curva, analisados por ANOVA *one way*, demonstraram interação dieta treinamento ($F = 967,8$ $p < 0,0001$). A comparação dos resultados entre os grupos mostrou que o NPT apresentou glicemia semelhante à do *Baseline* ($p > 0,05$), enquanto os demais grupos apresentaram maior nível glicêmicos ($p < 0,05$). O Grupo HPT, por outro lado, apresentou maior concentração glicêmica em 120 minutos ($p < 0,05$), porém, com a mesma captação de glicose demonstrada pelos demais grupos aos 120 minutos. - Figura 26.F.

Figura 26 - Resultados dos testes de tolerância à glicose intraperitoneal realizados em diferentes momentos do experimento em ratos ingerindo dieta hiperproteica, e submetidos a treinamento de força, 2017



Nota: Testes de tolerância à glicose intraperitoneal (TTGI) realizados na semana de familiarização, semana 6 e semana 12 de intervenções dietética e treinamento de força, e respectivas análises da área sob a curva – AUC. Valores expressos em média e desvio padrão. Letras iguais indicam diferença significativa entre os grupos. $p < 0,05$. **A**) Efeito dieta*treinamento ($F = 2,451$ $p = 0,0033$), efeito nos grupos ($F = 5,710$ $p = 0,0033$) e efeito do momento ($F = 43,67$ $p < 0,0001$). **B**) AUC do TTGI Sem 6: $NPT 24228 > HPC 24018 > NPC 23574 > HPT 18283 > Baseline 21872$. **C**) Diferença significativa entre todos os grupos, exceto NPC vs. NPT. **D**) Efeito do momento ($F = 40,19$ $p < 0,0001$). **E**) AUC do TTGI Sem 12: $HPT 28298 > NPC 25627 > HPC 25095 > NPT 22182 > Baseline 21872$. Diferença significativa entre os grupos, exceto Baseline vs. NPT e NPC vs. HPC. **F**) Diferença significativa entre: Baseline vs. NPC; Baseline vs. HPC; Baseline vs. HPT; NPC vs. NPT; NPC vs. HPT; HPC vs. NPT; HPC vs. HPT. NPC – grupo dieta normoproteica controle; HPC – grupo dieta hiperproteica controle; NPT – grupo dieta normoproteica submetido a treinamento de força; HPT – Grupo dieta hiperproteica submetido a treinamento de força.

6 DISCUSSÃO

O presente estudo parece ter sido o primeiro a avaliar impacto da dieta hiperproteica à base de PSL concentrada a 80% associada a TR, realizado até a falha, na glicemia e perfil lipídico, na quantidade de gordura visceral e no índice de adiposidade, assim como na massa corporal e consumo alimentar mediante análise da eficiência alimentar em ratos saudáveis ao longo de 12 semanas. Considerou-se estudo crônico ou desenvolvido por longo prazo por ser este período de tempo equivalente a nove anos do humano adulto (HU *et al.*, 2018).

Os principais achados mostraram que a DHP promoveu maior glicemia nos ratos treinados, favorecendo o estoque de glicogênio muscular, além de maior acúmulo de gordura na cavidade visceral dos ratos não treinados. O TF apresentou efeito de proteção contra o ganho de MC excessiva e significativo efeito na redução de ingestão alimentar. Os animais com DNP não treinados apresentaram resultados semelhantes aos treinados, exceto na magnitude do aumento de força muscular.

6.1 Massa corporal e consumo alimentar

Os ratos recebidos do biotério eram homogêneos quanto a idade, sexo e linhagem. Estavam expostos às mesmas condições ambientais e recebiam o mesmo tipo de ração. Mesmo assim, na semana de familiarização, apresentaram MC e CA diferentes. O grupo NPC se mostrou com maior CA que seus pares, e o grupo NPT com maior MC. Segundo Blundell *et al.* (2015), a diferença na proporção da massa gorda e massa livre de gordura são fatores intrínsecos do organismo passíveis de interferir na saciedade. A prevalência de tecido gorduroso em detrimento da massa muscular está associada à redução na percepção de saciedade, promovendo aumento no consumo alimentar e consequente aumento de MC exacerbado. Weigle *et al.* (2005) atribuem ao aumento da saciedade o principal fator para redução da MC.

É provável que a uniformidade da MC e CA, apresentada pelos grupos experimentais na Sem 1, tenha sido resposta aos procedimentos realizados na Sem 0 (treinamento, jejum e estresse inerente ao período de adaptação). Estudos mostram que o treinamento e o jejum são capazes de reduzir o CA e a MC, (ISHII *et al.*, 2003; KING; BURLEY; BLUNDELL, 1994).

Após seis semanas de ingestão de dieta hiperproteica, o grupo HPC apresentou maior consumo de ração que os animais submetidos ao TF, sem que o aumento no aporte calórico refletisse no aumento da MC. Resultados semelhantes foram encontrados por Avila *et al.*

(2018). Os autores submeteram ratos *wistar* saudáveis a TF com ingestão de DHP (35%) por 8 semanas. Os resultados encontrados evidenciaram que o grupo com ingestão de DHP, não treinado, apresentou maior consumo de ração que os demais grupos submetidos ao TF. No entanto, não apresentaram alteração significativa no MC quando comparado aos grupos treinados. Este dados corroboraram com os esclarecimentos sobre os mecanismos pelos quais o maior aporte proteico favorece e redução da MC, que são: maior termogênese que os outros macronutrientes (DRUMMEN *et al.*, 2018); aumento da taxa metabólica de repouso devido ao aumento da biossíntese de proteínas e oxidação de aminoácidos (DOMINIK; VARMAN, 2014; STOKES *et al.*, 2018); aumento da saciedade, tanto pela ação da leptina quanto pelo aumento dos aminoácidos de cadeia ramificada circulantes no sistema nervoso central (WEIGLE *et al.*, 2005; WESTERTER-PLANTENGA, M.S. *et al.*, 1999). Destaca-se que a DHP tem se mostrado mais eficaz na redução da MC quando associada à restrição alimentar do que nos experimentos com oferta alimentar *ad libitum* (WEIGLE *et al.*, 2005).

Após as 12 semanas experimentais, observou-se que treinamento de força apresentou importante efeito na redução do consumo alimentar e minimização do ganho de MC. Isso considerando que o aumento da MC, no decorrer da idade, é inerente ao roedor (NOVELLI *et al.*, 2017; NERY *et al.*, 2011). Os resultados aqui apresentados se mostraram de extrema importância para o controle de peso e prevenção da obesidade, especialmente na associação da DHP com o TF, pois o grupo HPT apresentou redução no consumo alimentar (- 0,9g) e menor ganho de MC que os grupos não treinados da sexta para a décima segunda semana.

O menor consumo de ração pelo grupo NPT para o do grupo NPC (0,1g e 1,1g, respectivamente) confirma efeito redutor no consumo alimentar em resposta ao treinamento de força realizado cronicamente. Estes achados corroboram com King *et al.* (1994) e King *et al.* (2009), que trazem o exercício crônico como potencialmente sacietógeno devido à capacidade aumentar a sensibilidade das vias fisiológicas de sinalização do sistema regulatório do apetite (SNC, hormônios, aminoácidos circulantes, aumento fluxo sanguíneo) promovendo maior saciedade em resposta ao mesmo volume alimentar.

Ao analisar os efeitos da dieta hiperproteica, observou-se que esse padrão dietético não apresentou benefícios na redução da MC, aumento de saciedade e minimização do tecido gorduroso, ou no metabolismo dos lipídeos sem estar associado ao TF. Lima *et al.* (2018) também não encontraram alteração no CA e MC em ratos saudáveis em resposta à dieta com 35% de proteínas na ausência de TF. Contudo, estudos anteriores apontaram efeitos positivos do maior consumo de caloria provenientes das proteínas (STOKES *et al.*, 2018; WESTERTER-PLANTENGA, *et al.*, 1999; WESTERTER-PLANTENGA, 2012). É

provável que o padrão dietético em questão seja benéfico para indivíduos com algum transtorno metabólico ou obesidade, não apresentando mesmos resultados em organismos.

6.2 Eficiência alimentar

A análise da eficiência alimentar (EA), medida avaliativa da capacidade do rato em transformar o alimento ingerido, tanto em gramas quanto em energia metabolizável em MC (NERY *et al.*, 2011), mostrou que o CEA do NPC foi superior ao dos demais grupos. No entanto, o CGMCC foi semelhante entre os grupos. Resultados apontaram para maior eficiência alimentar no grupo NPC, apesar de a capacidade em transformar energia metabolizável em MC não ter se diferenciado. Tal fator se justifica pela ausência de diferença estatística para o CGMCC ser um indicativo de que o nitrogênio foi retido para a biossíntese de tecido muscular (FAO, 2013), e também pela utilização de aminoácidos como substrato energético e aumento de gasto energético transitório devido maior aporte proteico (DOMINIK; VARMAN, 2014; TIRAPEGUI; ROGERO, 2007).

O uso da PSL concentrada a 80% é outro fator importante para a compressão da ausência de diferença no CGMCC, pois essa proteína fornece aminoácidos e peptídeos capazes de sintetizar proteínas com funções orgânicas importantes na presença do TF, a exemplo dos aminoácidos de cadeia ramificada e enzimas glutatona. Também há produção de incretinas e inibição da DPP-4, aumentando efeito das incretinas e conseqüentemente minimizando transformação da energia da dieta ingerida em MC (GUNNARSON *et al.*, 2006; PATEL, 2015)

O presente estudo não analisou proteínas de síntese endógena em resposta ao TF e PSL (GLUT-4, DPP-4, insulina), assim como não dissecou o animal separando o tecido muscular esquelético do tecido adiposo, ou avaliou as variáveis referentes à digestão e absorção de nutrientes (quantificação de urina, fezes e retenção de proteína na carcaça animal), tampouco mediu o gasto energético direto para melhor compreensão a respeito da EA de dieta hiperproteica à base de PSL-80%, o que limitou maior compreensão destes resultados.

6.4 - Gordura visceral e índice de adiposidade

Após 12 semanas, todos os grupos apresentaram significativo aumento no acúmulo de gordura na cavidade abdominal (tecido adiposo branco). O grupo com ingestão de dieta hiperproteica sem o TF evidenciou maior acúmulo de GV que seus pares (Tabela 7). Estes achados corroboram com Lynch *et al.* (2003) quando ação de elevada concentração de ACR no plasma (ocorre em dietas hiperproteicas) estimulam a diferenciação dos pré-adipócitos e adipogênese.

Os resultados da EA mostraram que o grupo NPC apresentou maior capacidade de transformar o alimento ingerido em MC. No entanto, a MC dos grupos HPC e NPC foram semelhantes, o que os diferenciou foi a quantidade de GV.

A diferença de MC em peso absoluto entre os grupos NPC e HPC (21,6g) foi inferior à quantidade de gordura acumulada na cavidade animal dos animais destes grupos (22,7g e 30,5g respectivamente). Dado relevante, porque o cúmulo de GV (obesidade centrípeta ou central) é considerada fator de risco para desenvolvimento de doenças crônicas (FOX *et al.*, 2007) e não a MC em valores absolutos. Estes resultados somam-se aos apresentados por outros autores quanto à possibilidade da DHP ser fator etiológico ao desenvolvimento de transtornos metabólicos, doenças cardiovasculares e determinados tipos de câncer (GUO, 2014; VAN NIELEN *et al.*, 2014; VERREIJEN *et al.*, 2017; VIRTANEN *et al.*, 2017).

A ausência de diferença na quantidade de gordura visceral encontrada entre o grupo NPT e os grupos treinados mostrou-se um dado a ser considerado como efeito do tipo de alimento fonte de proteína (PSL 80%), haja vista em outros experimentos com modelo animal e exercício físico, encontrar-se menor quantidade de gordura visceral nos grupos exercitados quando comparados aos não exercitados (LIMA *et al.*, 2018; NERY *et al.*, 2011).

Lima *et al.* (2018) em estudo com ratos submetidos a TF e ingestão de dieta hiperproteica (35%) por 8 semanas, utilizando a caseína como fonte de proteína, encontraram maior quantidade de GV entre os animais não treinados. No entanto, Ávila *et al.* (2018) ao submeterem ratos a treinamento de força e dieta hiperproteica (35%) por 8 semanas, empregando a PSL isolada como fonte proteica, não encontraram diferença significativa na quantidade de GV entre grupos treinados e não treinados. Estes achados, somados aos apresentados no presente trabalho, sugerem que o tipo de proteína é fator significativo na indução da adipogênese abdominal, mesmo na presença do exercício físico. Por isso, faz-se necessário maior número de estudos a respeito da influência do tipo de proteína na síntese de gordura abdominal.

Destaca-se a possibilidade do presente trabalho, mediante análise da EA e MC, ter sido o primeiro a observar a associação da ingestão de dieta hiperproteica à base de PSL (21%) com o acúmulo de GV, acrescentando essa informação sobre alterações fisiológicas provocadas pela DHP capazes de favorecer doenças crônicas (LAFOREST; VIDAL, 2017). Isso porque há grande número de estudos relacionando a hiperaminoacidemia (leucina, valina, isoleucina, tirosina) a um fator de risco diabetes tipo 2, síndrome metabólica, entre outras doenças crônicas (CHEN *et al.*, 2016).

Os resultados concernentes ao IA, ferramenta utilizada como parâmetro para avaliar a pré-disposição para o desenvolvimento de doenças cardiometabólicas e obesidade (LEOPOLDO *et al.*, 2016; TAYLOR; PHILLIPS, 1996), evidenciaram aumento nesse índice em todos os grupos após as 12 semanas.

Segundo os parâmetros de classificação do IA desenvolvidos por Leopoldo *et al.* (2016), todos os grupos concluíram as 12 semanas experimentais com sobrepeso. Resultados foram semelhantes aos encontrados por camundongos e ratos expostos à ingestão de dieta hiperlipídica (COSTA *et al.*, 2018; FERNANDES, 2008), apontando para a possibilidade da dieta com fonte proteica 100% de origem animal induzir aos mesmos resultados de dieta hiperlipídica (COSTA *et al.*, 2018; WEICKERT; PFEIFFER, 2018).

Embora o grau de adiposidade apresentado pelos grupos tenha sido considerado sobrepeso, permanece o risco aumentado de desenvolvimento de doenças associadas com o acúmulo de gordura visceral para o grupo HPC, pois o risco de adoecimento pelo excesso de gordura corporal está atrelado ao aumento do tecido adiposo branco e não à MC (AMATO; GUARNOTTA; GIORDANO, 2013).

6.5 Força máxima e força relativa

Este estudo pareceu ter sido o primeiro a ser realizado com roedor submetido a TF em escada até a falha, recebendo dieta hiperproteica à base de PSL 80% para avaliar o efeito na força muscular em 12 semanas de experimentação. Os resultados mostraram ausência de interação dieta e treinamento na capacidade de carregamento de carga, mas efeito do tempo. Ao término do experimento, a magnitude de força aumentou significativamente nos dois grupos treinados, independente do tipo de dieta ingerida.

Apesar da análise estatística não ter mostrado efeito significativo, os valores absolutos da carga carregada pelos animais ingerindo dieta hiperproteica foi 174,1g maior do que a carga

carregada pelo NPT, valor significativo para um roedor. A Força muscular determinada em percentagem mostrou que o grupo NPT aumentou 293,7%. Enquanto o grupo HPT aumentou em 379,7%, evidenciando que o TF executado até a falha foi eficaz no aumento da força muscular em 12 semanas de treinamento.

Krause *et al.* (2017) submeteram ratos *wistar*, de 20 meses de idade, a TF em escada ingerindo dieta comercial *ad libitum*, manipulando o variável volume por 15 semanas, e obtiveram como resultado aumento de força muscular de 180,6%. Achados semelhantes foram encontrados por Neves *et al.* (2015). Os ratos com 17 semanas de idade apresentaram aumento na magnitude de força de 140% após 12 semanas de treinamento de força em escada vertical e ingestão de dieta comercial (Nuvital® CR1).

É provável que variabilidade dos procedimentos experimentais tenham influenciado na magnitude de força aumentada, mas independente do quanto de força aumentou, observou-se que o fator tempo foi significativo para o aumento da força muscular. Isso corrobora com a literatura a respeito do processo de adaptação neuromuscular ser gradual e superior a 8 semanas, bem como o *turnover* proteico dos músculos esqueléticos e a retenção de proteínas nas miofibrilas necessitar de semelhante período (ACSM, 2009; TIRAPGUI; ROGERO, 2007).

A força relativa confirmou o aumento da força muscular em resposta ao tempo de treinamento e maior capacidade de carregamento de carga por grama de MC, em valores absolutos, na presença de dieta hiperproteica.

6.6 Parâmetros bioquímicos

6.6.1 Perfil lipídico

Após as 12 semanas de ingestão de DHP e TF, observou-se redução significativa nos parâmetros referentes aos triglicerídeos e VLDL-c no soro, os quais mostraram valores equivalentes aos apresentados pelo grupo *baseline* no início da experimentação. Estes resultados apontam para efeito sinérgico da dieta hiperproteica impedindo aumento nas concentrações dos triacilgliceróis e VLDL-c. Lima *et al.* (2017) e Avila *et al.* (2018) avaliaram o perfil lipídico de ratos submetidos a TF com ingestão de dieta hiperproteica (a fonte proteica foi caseína e PSL isolada, respectivamente). Observaram redução no nível de triglicerídeos na associação dieta e TF quando comparados ao grupo não treinado. É provável que o efeito

reductor no nível dos triglicerídeos não tenha influência do tipo de proteína, e sim a quantidade deste nutriente combinado ao treinamento.

Os níveis de HDL-c e LDL-c apontaram para influência negativa das intervenções dietéticas como associadas ou não ao TF nestes parâmetros bioquímicos. Resultados esses atípicos e divergentes de estudos anteriores (DOMINIK; VARMAN, 2014; PATEL, 2015).

Em relação ao perfil lipídico, conclui-se que a DHP com PSL não apresentou efeito protetor capaz de melhorar o perfil lipídico como abordado em estudos anteriores a este (DAVOODI *et al.*, 2016; DRUMMEN *et al.*, 2018).

Ausência de parâmetros bioquímicos e conhecimento sobre o efeito do treinamento de força até a falha no metabolismo dos lipídeos foi um fator limitante para o entendimento dos resultados aqui apresentados. Por isso, sugere-se o prosseguimento de estudos para elucidar respostas fisiológicas e metabólicas frente as manipulações das variáveis do treinamento de força, a fim de contribuir para o avanço das ciências do exercício e saúde.

6.6.2 Glicemia de jejum

O acompanhamento da glicemia de jejum apontou para influência do fator tempo na alteração da glicemia. No entanto, não houve diferença entre os grupos.

Na Sem 6, observou-se redução significativa na glicemia de jejum. Contudo, não houve diferença entre os grupos. Dado indicativo de que a PSL-80% apresentou capacidade de redução glicêmica, independentemente da quantidade de proteína constante na dieta ou da realização do TF. Morato *et al.* (2013), em experimento com ratos *wistar* e ingestão de dieta (AIN-93G) com 17% de PSL hidrolisada, encontraram em seus resultados redução glicêmica mediante aumento da translocação de GLUT-4. Gunnarson *et al.* (2006) mostraram que a PSL pode melhorar metabolismo da glicose por estimular secreção de insulina, aumentar ação de incretinas (GLP-1 e GIP) e inibir a peptidase DPP-4, enzima com ação na redução da ação de incretinas.

Contudo, após 12 semanas, os grupos voltaram aos valores glicêmicos apresentados no início do experimento e os animais não treinados se mostraram com glicemia de jejum superior à determinada no início do estudo. Giezenar *et al.* (2018) suplementaram idosos por 12 semanas com PSL isolada (28g de proteína na porção) e os resultados mostraram hiperglicemia

no grupo com ingestão da PSL. Avila *et al.*, em experimento de 8 semanas, identificaram ausência de influência da PSL isolada na glicemia.

Os estudos aqui apresentados evidenciam alteração na glicemia em resposta à PSL, porém, as diferenças nos métodos empregados (tipo de proteína e concentração da PSL, idade dos animais) dificulta o entendimento a respeito do efeito da PSL após 12 semanas de sua ingestão.

6.6.3 Teste de tolerância à glicose.

O TTGI realizado na Sem 6 evidenciou que o grupo HPC apresentou menor resposta à ação da insulina 15 minutos após infusão da glicose intraperitoneal, enquanto o HPT apresentou menor resistência à glicose nessa primeira determinação da glicemia. Isso se deve ao fato de que a queda de glicose nos primeiros 15 minutos, após infusão de glicose intraperitoneal, reflete a captação de glicose via insulina e a supressão da liberação de glicose hepática (GELONEZE; TAMBASCIA, 2006). Tanto a análise da área sob a curva, quanto o teste de ANOVA *two way* apontaram para efeito redutor na glicemia em resposta a ao consumo de dieta hiperproteica associado ao TF. Resultados apontam para efeito redutor na glicemia em resposta à dieta hiperproteica em indivíduos ou animais com obesidade instalada, ou transtornos no metabolismo da glicose, e não em ratos saudáveis. Dados semelhantes foram encontrados por Lima *et al.* (2018), pois houve redução na glicemia na associação dieta hiperproteica e TF.

A análises do TTGI realizado na Sem 12 mostrou valores glicêmicos semelhantes entre os grupos, sem valores discrepantes ao longo dos 120 minutos. Porém, a análise da AUC apontou para maior concentração glicêmica ao término do experimento do que a análise realizada na Sem 6, indicando que houve maior elevação glicêmica associada ao tempo de 12 semanas, e acentuada pela ingestão de dieta hiperproteica, mesmo na presença do TF. No entanto, o consumo de DNP combinado com TF apontou para efeito controlador redutor na glicemia e os valores determinados evidenciaram glicemia igual à apresentada pelo grupo *Baseline*. Dado surpreendente, visto que não se encontrou resultado semelhante a este na literatura.

Pontos fortes e limitações do estudo

Considerou-se pontos fortes: a utilização da PSL concentrada a 80% como fonte proteica; dieta hiperproteica *ad libitum* sem complemento com suplemento proteico após o treinamento; o treinamento do treinamento de força com carga progressiva executado até a falha para obtenção dos efeitos na força muscular; massa corporal (mediante utilização da eficiência alimentar) da gordura visceral acumulada e parâmetros bioquímicos. Foi assim realizado devido ao fato de que a utilização da dieta hiperproteica e da PSL serem amplamente utilizadas no TF, e seus efeitos, nas variáveis aqui estudadas, ainda serem obscuros em organismos saudáveis.

Quanto às limitações, não foi determinado o quanto de nitrogênio foi retido, a não dissecação do tecido muscular esquelético para acurácia da diferenciação do tecido adiposo da massa magra livre de gordura e a ausência de determinação dos aminoácidos de cadeia ramificada no soro são pontos que limitaram melhor compreensão dos resultados obtidos no presente estudo.

Implicações práticas

Sem a pretensão de extrapolar resultados de experimento em modelo, mas ciente da semelhança das respostas fisiológicas entre o roedor e o humano, considerou-se importante para a saúde humana o cuidado com consumo aumentado de proteínas de origem animal, devido às possibilidades de aumentar o acúmulo de gordura visceral. Adicionalmente, destaca-se a importância do treinamento de força no controle da massa corporal e no consumo alimentar.

7. CONCLUSÃO

O treinamento de força é uma eficiente estratégia para o controle de peso e redução do consumo alimentar. Quando associado à DHP, melhora a captação de glicose, reduz nível de triglicerídeos e VLDL-c no soro. A dieta hiperproteica aumenta o acúmulo de gordura visceral, e o fator tempo é mais importante para o aumento de força muscular que a DHP.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AOAC - Association of Official Analytical Chemistries. **Official Methods of Analysis**. 15th ed. Washington D.C; p. 11411990, 2009.

AOAC - Association of Official Analytical Chemistries. **Official Methods of Analysis**. Chapter Cereal foods, v. 32, p5, 2000.

ACSM. American College of Sports Medicine position stand. Progression models in resistance training for healthy adults. **Medicine and science in sports and exercise** v. 41, n. 3, p. 687–708, 2009.

ADAMS, G. R.; MCCUE, S. A. Localized infusion of IGF-I results in skeletal muscle hypertrophy in rats. **Journal of Applied Physiology** v. 84, n. 5, p. 1716–1722, 1998.

AIRES, Andréia Gomes. **O soro de leite como suplemento proteico para atletas**. 2010. 52 f. Universidade Federal do Rio Grande do Sul/UFRG, 2010.

ALAUNYTE, I.; STOJCESKA, V.; PLUNKETT, A. Iron and the female athlete: A review of dietary treatment methods for improving iron status and exercise performance. **Journal of the International Society of Sports Nutrition** v. 12, n. 1, p. 1, 2015.

ALBERTS, B; JOHNSON, A.; LEWIS, J.; MORGAN, D.; RAF, M.; ROBERTS, K.; WALTER, P.; WILSON, J.; HUNT, T. **Biologia olecular da célula**. 6 ed. São Paulo: Artmed, 2017.

ALBUQUERQUE, ALINE. Para uma ética em pesquisa fundada nos direitos humanos. **Revista Bioética** v.3, n. 21, p. 262 - 273, 2013.

ALDINA, G.; OLIVEIRA, M. G. A.; PIRES, C. V.; GOMES, M. R. A.; COSTA, N. M. B.; BRUMANO, H. N. M.; MOREIRA, M. A. Protein Quality and in Vivo Digestibility of Different Varieties of Bean (*Phaseolus vulgaris* L .) **Journal Brazilian of Food**. v. 6, n. 3 p. 157–162, 2003.

ALMEIDA, J. A.; PETRIZ, B. A.; GOMES, C. P. C.; ARAUJO, R. C.; PEREIRA, R. W.; FRANCO, O. L. Exercise Training at MLSS Decreases Weight Gain and Increases Aerobic Capacity in Obese Zucker Rats. **International Journal of Sports Medicine** v. 35, n. 03, p. 199–202, 2013.

_____. PETRIZ, B. A.; GOMES, C. P. C.; ROCHA, L. A. O.; PEREIRA, R. W.; FRANCO, O. L. Determination of the Maximal Lactate Steady State in Obese Zucker Rats. **International Journal of Sports Medicine** p. 214–217, 2012.

ALMEIDA, Jeiser Alves. **Determinação da máxima fase estável de lactato em ratos hipertensos e obesos : A importância do exercício físico frente às respostas fisiológicas em modelo**. 2014. 65 f. Tese (Doutorado em Educação Física) Universidade Católica de Brasília/UCB, Brasília, 2014.

ALWAY, S. E.; WINCHESTER, P. K.; DAVIS, M. E.; GONYEA, W. J. Regionalized adaptations and muscle fiber proliferation in stretch-induced enlargement. **J Appl Physiol** v. 66, n. 2, p. 771–781, 1989.

AMATO, M. C.; GUARNOTTA, V.; GIORDANO, C. Body composition assessment for the definition of cardiometabolic risk. **Journal of Endocrinological Investigation** v. 36, n. 7, p. 537–543, 2013.

AMAYA-FARFAN, J.; DOMENE, S. M.A.; PADOVANI, R. M. Dri: Síntese comentada das novas propostas sobre recomendações nutricionais para antioxidantes. **Revista de Nutrição** v. 14, n. 1, p. 71–78, 2001.

ANGELIS, K.; RODRIGUES, B.; ZANESCO, A.; OLIVEIRA, E. M.; JUNIOR, H. J. C.; BRUM, P. C.; SOARES, P. P.; WICHI, R. B.; AMARAL, S. L.; SANCHES, I. C. The importance of animal studies in Exercise Science. **Motriz. Revista de Educacao Fisica** v. 23, n. 9, p. 1–7, 2017.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Publicadas novas regras para Suplementos alimentares. 2018. Disponível em: http://portal.anvisa.gov.br/noticias/-/asset_publisher/FXrpx9qY7FbU/content/publicadas-novas-regras-para-suplementos-alimentares/219201?p_p_auth=mz8pyuL0&inheritRedirect=false. Acesso em: 27 de dezembro de 2018.

ARAÚJO, G. G. ARAÚJO, M. B.; DANGELO, R. A.; MANCHADO, F. B.; MOTA, C. S. A.; RIBEIRO, C.; MELLO, M. A. R. Máxima Fase Estável de Lactato em Ratos Obesos de Ambos os Gêneros. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte** v. 15, n. 1, p. 46–49, 2009.

ARCIERO, P. J.; BAUR, D.; CONNELLY, S. ORMSBEE, M. J. Timed-daily ingestion of whey protein and exercise training reduces visceral adipose tissue mass and improves insulin resistance: the PRISE study. **Journal of applied physiology** v. 117, n. 1, p. 1–10, 1 jul. 2014.

ARETA, J. L.; BURKE, L. M.; ROSS, L. M.; CAMERA, D. M.; WEST, D. W. D.; BROAD, E. M.; JEACOCKE, N. A.; MOORE, D. R.; STELLINGWERFF, T.; PHILLIPS, S. M.; HAWLEY, J. A.; COFFEY, V. G. Timing and distribution of protein ingestion during prolonged recovery from resistance exercise alters myofibrillar protein synthesis. **Journal of Physiology** v. 591, n. 9, p. 2319–2331, 2013.

ARRUDA, D. P.; ASSUMPÇÃO, C. O.; URTADO, C. B.; DORTA, L. N. O.; ROSA, M. R. R.; ZABAGLIA, R.; SOUZA, T. M. F. Relação Entre Treinamento De Força E Redução Do Peso Corporal. **Revista Brasileira de Prescrição e Fisiologia do Exercício** v. 24, n. 4, p. 605–609, 2010.

AVILA, E. T. P.; LIMA, TIBANA, R. A.; ALMEIDA, P. C.; FRAGA, G. A.; SENA, M. S.; CORONA, L. F. P.; NAVALTA, J. W.; REZAEI, S.; GHAYOMZADEH, M. A.; PRESTES, J.; VOLTAELLI, F. A. Effects of high-protein diet containing isolated whey protein in rats submitted to resistance training of aquatic jumps. **Nutrition** v. 53, p. 85–94, 2018.

BAAR, K.; ESSER, K. Phosphorylation of p70 S6k correlates with increased skeletal muscle mass following resistance exercise. **American Journal of Physiology-Cell Physiology** v. 276, n. 1, p. C120–C127, 1999.

BALDASSO, Camila. **Concentração, purificação e fracionamento de proteínas do soro lácteo através da tecnologia de separação por membranas**. 2008. 179 f. Dissertação (Mestre em Engenharia Química) Escola de Engenharia. Universidade Federal do Rio Grande do sul, 2008.

BATISTA, T. M. RIBEIRO, R. A.; SILVA, P. M. R.; CAMARGO, R. L.; LOLLO, P. C. B.; BOSCHERO, A. C.; CARNEIRO, E. M. Taurine supplementation improves liver glucose control in normal protein and malnourished mice fed a high-fat diet. **Molecular Nutrition and Food Research** v. 57, n. 3, p. 423–434 , 2013.

BILSBOROUGH, S. M. N. A review of issues of dietary protein intake in humans. **Int J Sport Nutr Exerc Metab** v. 16, n. 2, p. 129–152 , 2006.

BLUNDELL, J. E. GIBBONS, G.; CAUDWELL, P.; FINLAYSON, G. HOPKINS, M. Appetite control and energy balance: Impact of exercise. **Obesity Reviews** v. 16, n. S1, p. 67–76 , 2015.

BOIRIE, Y.; DANGIN, M.; GACHON, P.; VASSON, M. P.; MAUBOIS, J. L.; BEAUFRÈRE, B. **Slow and fast dietary proteins differently modulate postprandial protein accretion.** 1997. 14930-14935 p.

BOOTH, F. W.; LAYE, M. J.; SPANGENBURG, E. E. Gold standards for scientists who are conducting animal-based exercise studies. **Journal of Applied Physiology** v. 108, n. 1, p. 219–221 , 2010.

BORGES, P. F. Z.; SGARBIERI, V. C.; DIAS, F. F. G. P.; JACOBUCCI, H. B.; PACHECO, M. T. B.; BALDINI, V. L. S. Produção Piloto de Concentrados de Proteínas de Leite Bovino: Composição e Valor Nutritivo. **Brazilian Journal of Food Technology** v. 4, p. 1–8 , 2001.

BOSCHI, J R. **Concentração e purificação das proteínas do soro de queijo por ultrafiltração.** 2006. 119 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Escola de Engenharia Química/UFRGS, Porto Alegre.

BOTTINELLI, R; REGGIANI, C. Human skeletal muscle fibres: molecular and functional diversity. **Prog Biophys Mol Biol** v. 73, n. 2–4, p. 195–262 , 2000.

BOUNOUS, G; LETOURNEAU, L; KONGSHAVN, P. A. Influence of dietary protein type on the immune system of mice. **J Nutr** v. 113, n. 7, p. 1415–1421 , 1983.

INTERNATIONAL LIFE SCIENCES INSTITUTE OF BRASIL (ILSI). **Funções plenamente reconhecidas de nutrientes: proteína.** São Paulo: ILSI Brasil, 2012. 1-16 p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução ANVISA RDC nº 18, de 27 de abril de 2010. Dispõe sobre alimentos para atletas. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil.** Poder Executivo, Brasília, DF, 28 abr. Seção 1, p. 211

BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução ANVISA - RDC nº 360, 23 de dezembro de 2003. Regulamento técnico sobre rotulagem nutricional de alimentos embalados. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil.** Poder Executivo, Brasília, DF, 26 dez. Seção 1, p. 33.

BRASIL, R. B.; NICOLAU, E. S.; CABRAL, J. F. Estrutura e estabilidade das micelas de caseína do leite bovino. **Ciência Animal** v. 25, n. 2, p. 71–80 , 2015.

BRÖER, S.; BRÖER, A. Amino acid homeostasis and signalling in mammalian cells and organisms. **Biochemical Journal** v. 474, n. 12, p. 1935–1963 , 2017.

BUGGY, A. K. MCMANUS, J. J.; BRODKORB, A.; HOGAN, S. A.; FENELON, M. A. Pilot-

scale formation of whey protein aggregates determine the stability of heat-treated whey protein solutions—Effect of pH and protein concentration. **Journal of Dairy Science** p. 1–12 , 2018.

CAMERA, D. M. WEST, D. W. D.; PHILLIPS, S. M.; T.; STELLINGWERFF, T. HAWLEY, J. A. Protein ingestion increases myofibrillar protein synthesis after concurrent exercise. **Medicine and science in sports and exercise** v. 47, n. 1, p. 82–91 , 2015.

CARABALLO, S. C. G.; COMHAIR, T. M.; HOUTEN, S. M.; DEJONG, C. H. C.; LAMERS, W. H.; KOEHLER, E. High-protein diets prevent steatosis and induce hepatic accumulation of monomethyl branched-chain fatty acids. **Journal of Nutritional Biochemistry** v. 25, n. 12, p. 1263–1274 , 2014.

CARSON J. A, WEI, L. Integrin signaling's potential for mediating gene expression in hypertrophy skeletal muscle. **J Appl Physiol** v. 88, p. 337–343 , 2000.

CERMAK, N. M.; LISETTE, P. T. R.; GROOT, C. P. G. M.; SARIS, W. H. M.; LOON, L. J. C. Protein supplementation augments the adaptive response of skeletal muscle to resistance type exercise training a meta analysis.pdf. **American Journal of Clinical Nutrition**. v. 96, n. 6, p. 1454–1464 , 2012.

CHAMBERS, M. A.; MOYLAN, J. S.; SMITH, J. D.; GOODYEAR, L. J.; REID, M.B. Stretch-stimulated glucose uptake in skeletal muscle is mediated by reactive oxygen species and p38 MAP-kinase. **Journal of Physiology** v. 587, n. 13, p. 3363–3373 , 2009.

CHEN, T. NI.; Y.; MA, X.; BAO, Y.; LIU, J.; HUANG, F.; HU, C.; XIE, G.; ZHAO, A.; JIA, W.; JIA, W. Branched-chain and aromatic amino acid profiles and diabetes risk in Chinese populations. **Scientific Reports** v. 6 , 2016.

CHOLEWA, J.; GUIMARÃES-FERREIRA, L.; TEIXEIRA, T. S; NAIMO, N. A.; ZHI, X.; SÁ, R. D. P.; LODETTI, A. CARDOZO, M. Q.; ZANCHI, N. V. Basic models modeling resistance training: An update for basic scientists interested in study skeletal muscle hypertrophy. **Journal of Cellular Physiology** v. 229, n. 9, p. 1148–1156 , 2014

CHURCHWARD-VENNE, T. A; BURD, N. A; PHILLIPS, S. M. Nutritional regulation of muscle protein synthesis with resistance exercise: strategies to enhance anabolism. **Nutrition and Metabolism** v. 9, n. 1, p. 40 , 2012.

COOPER, A. J. L.; NIEVES, E.; ROSENSPIRE, K. C.; FILC-DERICCO, S.; GELBARD, A. S.; BRUSILOW, S. W. Short-term Metabolic Fate of ¹³N-Labeled Glutamate , Alanine , and Glutamine (amide) in Rat Liver. **The Journal of biological chemistry** v. 263, n. 25, p. 12268–12273 , 1988.

COSTA, N. M. B.; PELUZIO, M. C. G.; MARTINO, H. S. D.; HENRIQUES, G. S. **Nutrição experimental: nutrição experimental**. Rio de Janeiro: Rubio. 2014.

COSTA, T.; M.; S.; FERREIRA, R. S.; MULLER, K. T.; C.; CALÇAS, N. C.; MENDONÇA, L. A. B. M.; GUIMARÃES, R. C. A.; JOÃO, A. G. M. Effect of hyperlipidemic diet on wistar rats hyperlipidemic diet on wistar rats. **IARC scientific publications** v. 08, n. O3, p. 19244–19248 , 2018.

COZZOLINO, S. M. F. **Biodisponibilidade de nutrientes**. 5 ed. São Paulo: Manole, 2016.

CUNHA, T. S.; TANNO, A. P.; MOURA, M. J. C.S.; MARCONDES, F. K. Influence of high-intensity exercise training and anabolic androgenic steroid treatment on rat tissue glycogen content. **Life Sciences** v. 77, n. 9, p. 1030–1043 , 2005.

DAMAS, F.; PHILLIPS, S. M.; VECHIN, F. C.; UGRINOWITSCH, C. A Review of Resistance Training-Induced Changes in Skeletal Muscle Protein Synthesis and Their Contribution to Hypertrophy. **Sports Medicine** v. 45, n. 6, p. 801–807 , 2015.

_____. PHILLIPS, S. M.; LIBARDI, C. A.; VECHIN, F. C.; LIXANDRÃO, M. E.; JANNIG, P. R.; COSTA, L. A. R.; BACURAU, A.; SNIJDERS, T.; PARISE, P.; TRICOLI, V.; ROSCHEL, H.; UGRINOWITSCH, C. Resistance training-induced changes in integrated myofibrillar protein synthesis are related to hypertrophy only after attenuation of muscle damage. v. 18, n. 594, p. 5209–5222 , 2016.

DAMATTA, Renato Augusto. Animal models in biomedical research [Abstract in English]. **Scientia Medica** v. 20, n. 3, p. 210–211 , 2010.

DAVIES, R.; W.; CARSON, B.; P.; JAKEMAN, P.; M. The effect of whey protein supplementation on the temporal recovery of muscle function following resistance training: A systematic review and meta-analysis. **Nutrients** v. 10, n. 2 , 2018.

DAVOODI, S. H.; SHAHBAZI, R.; ESMAEILI, S.; SOHRABVANDI, S.; MORTAZAVIAN, A. M.; JAZAYERIE, S.; TASLIMI, A. Health-Related Aspects of Milk Proteins. v. 15, n. January, p. 573–591 , 2016.

DEVLIN, T. M. **Manual de bioquímica com correlações clínicas**. 6 ed. São Paulo: Bluncher, 2007.

DOIG, G.; S.; SIMPSON, F. Randomization and allocation concealment: A practical guide for researchers. **Journal of Critical Care** v. 20, n. 2, p. 187–191 , 2005.

DOMINIK, P.; VARMAN, S. A high-protein diet for reducing body fat : mechanisms and possible caveats. **Nutrition and metabolism** v. 11, n. 53, p. 1–8 , 2014.

DRUMMEN, TISCHMANN, L.; GATTA-CHERIF, B.; ADAM, T.; WESTERTERPLANTENGA, M. Dietary protein and energy balance in relation to obesity and co-morbidities. **Frontiers in Endocrinology** v. 9, p. 1–13 , 2018.

DUNCAN, N. D.; WILLIAMS, D.; A.; LYNCH, G.; S. Adaptations in rat skeletal muscle following long-term resistance exercise training. **European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology** v. 77, n. 4, p. 372–378 , 1998.

OLIVEIRA, J. E. D; MARCHINI, J. S. **Ciências Nutricionais**. São Paulo: Sarvier, 1998.

OLIVEIRA, J. E. D.; MARCHINI, J. S. **Ciências Nutricionais**. 2 ed. São Paulo: Sarvier, 2003.

FAGUNDES, D. J.; TAHA, M.; O. Animal disease model: choice's criteria and current animals specimens. **Acta Cirúrgica Brasileira** v. 19, n. 1, p. 59–65 , 2004.

FAO/WHO Expert Consultation. 1991. Protein quality evaluation report of the Joint FAO/WHO Expert Consultation held in Bethesda, Md., USA, in 1989. **FAO Food and Nutrition Paper** 51, Rome.

FAO. Food Agriculture Organization of the United Nations. **Dietary protein quality evaluation in human nutrition**. 92. ed. Rome: [s.n.], 2013. 1-79 p. .

FEKETE, Á. A.; GIROMINI, C.; CHATZIDIAKOU, Y.; GIVENS, D. I.; LOVEGROVE, J. A. Whey protein lowers systolic blood pressure and Ca-caseinate reduces serum TAG after a high-fat meal in mildly hypertensive adults. **Scientific Reports** v. 8, n. 1, p. 1–9 , 2018.

FERNADES, T.; SOCI, U. P. R.; CARMO, E. C.; BARROS, J. C.; OLIVEIRA, E. M. Determinantes moleculares da hipertrofia do músculo esquelético mediados pelo treinamento físico: estudo de vias de sinalização. **Revista Mackenzie de Educação Física e Esporte** v. 1, n. 7, p. 169 - 188, 2008.

FLETCHER, W. M.; HOPKINS, F. Gowland. Lactic acid in amphibian muscle. **The Journal of Physiology** v. 35, n. 4, p. 247–309 , 1907.

FOILLET, H.; MARIOTTI, F.; GAUDICHON , C.; BOS, C.; HOMÉ, D. Peripheral and Splanchnic Metabolism of Dietary Nitrogen Are Differently Affected by the Protein Source in Humans as Assessed by Compartmental Modeling 1. **The Journal of Nutrition** v. 132, n. 1, p. 125–133 , 2002.

GELONEZE, B.; TAMBASCIA, M. A. Avaliação Laboratorial e Diagnóstico da Resistência Insulínica. **Arquivos brasileiros de endocrinologia e metabologia** v. 50, n. 2, p. 208–215 , 2006

GIEZENAAR, C.; BURGH, Y.; LANGE, K.; HATZINIKOLAS, S.; HAUSKEN, T.; JONES, K. L.; HOROWITZ, M.; CHAPMAN, I.; SOENEN, S. Effects of substitution, and adding of carbohydrate and fat to whey-protein on energy intake, appetite, gastric emptying, glucose, insulin, ghrelin, cck and glp-1 in healthy older men—a randomized controlled trial. **Nutrients** v. 10, n. 2, p. 1–14 , 2018.

GOBATTO, C. A. MELLO, M. A. R.; SIBUYA, C. Y.; AZEVEDO, J. R. M.; SANTOS, L. A.; KOKUBUN, E. Maximal lactate steady state in rats submitted to swimming exercise. **Comparative Biochemistry and Physiology - A Molecular and Integrative Physiology** v. 130, n. 1, p. 21–27 , 2001.

GOBATTO, C. A.; MANCHADO-GOBATTO, F. B. Envolvendo Exercício Físico no Âmbito das Políticas Públicas : Ações Bilaterais entre Pesquisa e Prática. In: IPES. **Políticas públicas qualidade de vida e atividade física**. Campinas: [s.n.], 2011. p. 35–43.

GOLDBERG, E. J. D; GOLDSPINK, D. F.; JABLECKI, C. Mechanism of work-induced hypertrophy of skeletal muscle. **Medicine and Science in Sports** v. 7, n. 3, p. 185–198 , 1975.

GOLDBERG, A L. Protein synthesis During Work Induced Growth of Skeletal Muscle. **Journal of Cell Biology** v. 36, n. 3, p. 653–658 , 1968.

GOLDSPINK, G. Gene expression in muscle in response to exercise. **J Muscle Res Cell Motil** v. 24, n. 2–3, p. 121–126 , 2003.

_____. Changes in muscle mass and phenotype and the expression of autocrine and systemic growth factors by muscle in response to stretch and overload. **Journal of Anatomy** v. 194, n. 3, p. 323–334 , 1999.

GONÇALVES, L. A. A suplementação de leucina com relação à massa muscular em humanos. **Revista Brasileira de Nutrição Esportiva** v. 7, n. 40, p. 212 - 223, 2013.

GORDON, E. E. Anatomical and biochemical adaptations of muscle to different exercises. **Sports Symposium** v. 201, n. 10, p. 755 - 758, 1967.

GRANACHER, U.; GOLLHOFER, A.; HORTOBÁGYI, T.; KRESSIG, R. W.; MUEHLBAUER, T. The importance of trunk muscle strength for balance, functional performance, and fall prevention in seniors: A systematic review. **Sports Medicine** v. 43, n. 7, p. 627–641, 2013.

GUNNARSON, P. T.; WINZELL, M. S.; DEACON, C. F.; LARSEN, M. O.; JELIC, K.; CARR, R. D.; AHRÉN, B. Glucose-induced incretin hormone release and inactivation are differently modulated by oral fat and protein in mice. **Endocrinology** v. 7, n. 147. p. 3173 - 3180, 2006.

GUO, Shaodong. Insulin signaling, resistance, and metabolic syndrome: insights from mouse models into disease mechanisms. **Journal of Endocrinology** v. 220, n. 2, p. T1–T23, fev. 2014.

HADDAD, F. ADAMS, G. R.; BODELL, P. W.; BALDWIN, K. M. Isometric resistance exercise fails to counteract skeletal muscle atrophy processes during the initial stages of unloading. **Journal of Applied Physiology** v. 100, n. 2, p. 433–441, 2006.

HAQUE, M. A.; ALDRED, P.; CHEN, J.; BARROW, C. J.; ADHIKARI, B. Comparative study of denaturation of whey protein isolate (WPI) in convective air drying and isothermal heat treatment processes. **Food Chemistry** v. 141, n. 2, p. 702–711, 2013.

HARAGUCHI, F. K.; ABREU, W. C.; PAULA, H. Whey protein: Composition, nutritional properties, applications in sports and benefits for human health. **Revista de Nutricao** v. 19, n. 4, p. 479–488, 2006.

HARPER, A. E.; BENEVENGA, N. J.; WOHLHUETER, R. M. Effects of ingestion of disproportionate amounts of amino acids. **Physiological reviews** v. 50, n. 3, p. 428–558, 1970.

HARTY, P. S.; ZABRISKIE, H. A.; ERICKSON, J. L.; MOLLING, P. E.; KERKSICK, C. M.;

HAUN, C. T.; VANN, G. T.; MOBLEY, C. B.; ROBERSON, P. A.; OSBURN, S. C.; HOLMES, H. M.; MUMFORD, P. M.; ROMERO, M. A.; YOUNG, K. C.; MOON, J. R.; GLADDEN, L. B.; ARNOLD, R. D.; ISRAETEL, M. A.; KIRBY, A. N.; ROBERTS, M. D. Effects of Graded Whey Supplementation During Extreme-Volume Resistance Training. **Frontiers in Nutrition** v. 84, n. 5, p. 1–16, 2018.

HAWLEY, J. A. Integrative biology of exercise. **Cell** v. 159, n. 4, p. 738–749, 2014.

HECK, H.; MADER, A.; HESS, G.; MUCKE, S. MULLER, R. HOFLMANN, W. Justification of the 4-mmol/l Lactate Threshold. **International Journal of Sports Medicine** v. 06, n. 03, p. 117–130, 1985.

HEINEMEIER, K. M.; OLESEN, J. L.; SCHJERLING, P.; HADDAD, F.; LANGBERG, H.; BALDWIN, K. M.; KJAER, M. Short-term strength training and the expression of myostatin and IGF-I isoforms in rat muscle and tendon: differential effects of specific contraction types.

Journal of Applied Physiology v. 102, n. 2, p. 573–581 , 2006.

HIANE, P. A.; MACEDO, M. L. R.; G. M. S.; ANTÔNIO, J.; NETO, B. Avaliação nutricional d proteína de amêndoas de bocaiuva, (*Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd.) em ratos Wistar em crescimento. **B. Ceppa**, v. 24, n. 1, p. 191–206 , 2006.

HOPPELER, H.; BAUM, O. LURMAN, G.; MUELLER, M. Molecular mechanisms of muscle plasticity with exercise. **Comprehensive Physiology** v. 1, n. 3, p. 1383–412 , 2011.

HORNBERGER J. R.; FARRAR, R. P. Physiological Hypertrophy of the FHL Muscle Following 8 Weeks of Progressive Resistance Exercise in the Rat. **Canadian Journal of Applied Physiology** v. 29, n. 1, p. 16–31 , 2004.

HORNBERGER, T. A.; CHIEN, S. Mechanical stimuli and nutrients regulate rapamycin-sensitive signaling through distinct mechanisms in skeletal muscle. **Journal of Cellular Biochemistry** v. 97, n. 6, p. 1207–1216 , 2006.

HU, S.; WANG, L.; YANG, D.; WANG, S.; DOUGLAS, A.; SPEAKMAN, J. R. Dietary fat, but not protein or carbohydrate, regulates energy intake and causes adiposity in mice. v. 28, n. 3, p. 415 - 431, 2018.

HUANG, Wen-ching *et al.* Whey Protein Improves Marathon-Induced Injury and Exercise Performance in Elite Track Runners. v. 14, n. 7, 2017.

INSTITUTE OF MEDICINE (IOM). **DRI - dietary reference intakes: energy, carbohydrate, fiber, fat, fatty acids, cholesterol, protein and amino acids**. Washington, D.C: National Academies Press, 2002. 1-1357 p. .0-309-08537-3.

ISHII, Y. *et al.* Effects of systematic variation in presatiation and fasting on the behavioural satiety sequence in male rats. **Physiology and Behavior** v. 79, n. 2, p. 227–238 , 2003.

JÄGER, Ralf *et al.* International Society of Sports Nutrition Position Stand: Protein and exercise. **Journal of the International Society of Sports Nutrition** v. 14, n. 1, p. 1–25 , 2017.

JAKUBOWICZ, D.; FROY, O. Biochemical and metabolic mechanisms by which dietary whey protein may combat obesity and Type 2 diabetes. **Journal of Nutritional Biochemistry** v. 24, n. 1, p. 1–5 , 2013.

KARACA, M. MARTIN-LEVILAIN, J.; GRIMALDI, M.; L, L.; DIZIN, E.; EMRE , Y.; MAECHLER, P. Liver Glutamate Dehydrogenase Controls Whole-Body Energy Partitioning Through Amino Acid-Derived Gluconeogenesis and Ammonia Homeostasis. **Diabetes** v. 67, n. 10, p. 1949–1961 , 2018.

KASIM-KARAKAS, S. E.; ALMARIO, R. U.; CUNNINGHAM, W. Effects of protein versus simple sugar intake on weight loss in polycystic ovary syndrome (according to the National Institutes of Health criteria). **Fertility and Sterility** v. 92, n. 1, p. 262–270 , 2009.

KAWADA, S.; ISHII, Naokata. Skeletal muscle hypertrophy after chronic restriction of venous blood flow in rats. **Medicine and Science in Sports and Exercise** v. 37, n. 7, p. 1144–1150 , 2005.

KERKSICK, C., WILBORN, C., D., TAYLOR, L., CAMPBELL, B., ALMADA, A., L.,

COLLINS, R., COOKE, M., EARNEST, C., P., GREENWOOD, M., KALMAN, D., S., ., M., KLEINER, S., M., LEUTHOLTZ, B., LOPEZ, H., LOWERY, L., M., MENDEL, R., SMITH, A., SPANO, J., KREIDER, R, B. Exercise & sports nutrition review: research & recommendations. **Journal of the International Society of Sports Nutrition** p. 1–57 , 2018.

KING, N. A. K.; Caudwell, P. P.; Hopkins, M. Stubbs, J. R.; Naslund, E. Blundell, E.; Dual-process action of exercise on appetite control: Increase in orexigenic drive but improvement in meal-induced satiety. **American Journal of Clinical Nutrition** v. 90, n. 4, p. 921–927 , 2009.

KING, N. A. K.; BURLEY, V. J.; BLUNDELL, J. E. Exercise-induced suppression of appetite: effect on food intake and implications for energy balance. **European Journal of Clinical Nutrition** v. 48, p. 715–724 , 1994.

KINSELLA, J. E.; WHITEHEAD, D. M. Proteins in Whey: Chemical, Physical, and Functional Properties. **Adv. Food Nutr. Res.** v. 33, p. 343–438 , 1989.

KLITGAARD, H. A model for quantitative strength training of hindlimb muscles of the rat. **Journal of applied physiology (Bethesda, Md. : 1985)** v. 64, n. 4, p. 1740–5 , abr. 1988.

KOSTOGRYS, Renata B. *et al.* Effect of low carbohydrate high protein (LCHP) diet on lipid metabolism, liver and kidney function in rats. **Environmental Toxicology and Pharmacology** v. 39, n. 2, p. 713–719 , 2015.

KRAEMER, William J.; RATAMESS, Nicholas A. Fundamentals of Resistance Training: Progression and Exercise Prescription. **Medicine and Science in Sports and Exercise** v. 36, n. 4, p. 674–688 , 2004.

KRAUSE, W. N.; SILVA, W. A.; CIENA, A. P.; BOCALINI, D.; NUCCI, R. A. B.; ARARUMA, C. A.; GAMA, E. F. Total training load may explain similar strength gains and muscle hypertrophy seen in aged rats submitted to resistance training and anabolic steroids. **The Age Male** v. 21, n. 1, p. 1 - 11, 2017.

KREBS, H.; SALVIN, E; JOHNSON, W a. The formation of citric and alpha-ketoglutaric acids in the mammalian body. **The Biochemical journal** v. 32, n. 1, p. 113–7 , 1938.

KREIDER, R B. *et al.* International Society of Sports Nutrition position stand: Safety and efficacy of creatine supplementation in exercise, sport, and medicine. **Journal of the International Society of Sports Nutrition** v. 14, n. 1, p. 1–18 , 2017.

KREIDER, R B. Dietary supplements and the promotion of muscle growth with resistance exercise. **Sports Med** v. 27, n. 2, p. 97–110 , 1999.

KREIDER, R B *et al.* ISSN exercise & sport nutrition review: research & recommendations. **J Int Soc Sports Nutr** v. 7, p. 7 , 2010.

KREIDER, Richard B *et al.* ISSN Exercise & Sport Nutrition Review: Research & Recommendations. **Journal of the International Society of Sports Nutrition** v. 1, n. 1, p. 1 , 2004.

KREIDER, Richard B *et al.* Long-term creatine supplementation does not significantly affect clinical markers of health in athletes. **Molecular and cellular biochemistry** v. 244, n. 1–2, p. 95–104 , fev. 2003.

KROGH, August. ANIMAL TISSUES , WITH SOME REMARKS ON. **J. Physiol.** v. 56, n. 6, p. 391–408 , 1919.

LAFORST, S.; VIDAL, H. Comparative Analysis of Three Human Adipocyte Size Measurement Methods and Their Relevance for Cardiometabolic Risk. **Obesity** v. 1, n. 25, p. 122–131 , 2017.

LAYMAN, D. K.; *et al.* Human Nutrition and Metabolism Increased Dietary Protein Modifies Glucose and Insulin Homeostasis in Adult Women during Weight Loss 1,2. **J. Nutr** v. 133, n. July 2002, p. 405–410, 2003.

LEOPOLDO, A. S. *et al.* Classification of different degrees of adiposity in sedentary rats. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research** v. 49, n. 4, p. 1–9 , 2016.

LI, H.; MARSHALL, A. J. Phosphatidylinositol (3,4) bisphosphate-specific phosphatases and effector proteins: A distinct branch of PI3K signaling. **Cellular Signalling** v. 27, n. 9, p. 1789–1798 , 2015.

LIMA-LEOPOLDO, A. P.; LEOPOLDO, A. S.; SILVA,, D. C. T.; NASCIMENTO, A. F.; CAMPOS, D. H. S.; LUVIZOTTO, R. A. M.; DEUS, A. F.; FREIRE, P. P.; MEDEIROS, A.; OKOSHI, K.; CICOONA, A. C. Long-term obesity promotes alterations in diastolic function induced by reduction of phospholamban phosphorylation at serine-16 without affecting calcium handling. **J Appl Physiol (1985)** v. 117, n. 6, p. 669–678 , 2014.

LIMA, R. L.; ÁVILA, E. T. P.; FRAGA, G. A.; SENA, M. S.; DIAS, A. B. S.; ALMEIDA, P. C.; TROBETA, J. C. S.; JUNIOR, R. C. V.; DAMAZO, A. S.; NAVALTA, J. W.; PRESTES, J.; VOLTARELLI, F. A. Effect of administration of high-protein diet in rats submitted to resistance training. **European Journal of Nutrition** v. 57, n. 3, p. 1086–1096 , 2018.

LOPES, JOSÉ AGOSTINHO. Bioética - uma breve história: de Nuremberg (1947) a Belmont (1949) **Revista Médica de Minas Gerais** v. 2, n. 24, p. 262 - 273, 2012.

LYNCH, C. J.; HALLE, B.; FUJII, H.; VARY, T. C.; WALLIN, R.; DAMUNI, Z.; HUTSON, S. M. Potential role of leucine of metabolism in the leucine-signaling pathway involve-ing mTOR. **American Journal Physiology Endocrinol Metabolism** v. 285, p. E855 - E863, 2003.

LUHOVYY, B. L.; AKHAVAN, T.; ANDERSON, G. H. Whey Proteins in the Regulation of Food Intake and Satiety. **Journal of the American College of Nutrition** v. 26, n. 6, p. 704S–712S , 2007.

LUTZ, Instituto Adolfo. **Métodos físicos-químicos para análise de alimentos**. 4. ed. SÃO PAULO: [s.n.], 2008. 1-1002.

MARCHINI, J. S. *et al.* Cálculo das recomendações de ingestão protéica: aplicação a pré-escolar, escolar e adulto utilizando alimentos brasileiros. **Revista de Saude Publica** v. 28, n. 2, p. 146–152 , 1994.

MARCHINI, J. S. **Ingestão recomendada de aminoácidos essenciais para indivíduos jovens eutróficos do sexo masculino. Estudo empregando isótopo estável, aminoácidos plasmáticos e balanço nitrogenado**. Universidade de São Paulo, 1992. 1-76 p.

MARQUETI, R. C.; *et al.* Resistance training minimizes the biomechanical effects of aging in

three different rat tendons. **Journal of Biomechanics** v. 53, p. 29–35 , 2017.

MARSHALL, K. Therapeutic applications of whey protein. **Alternative medicine review : a journal of clinical therapeutic** v. 9, n. 2, p. 136–156 , 2004.

MARTINS. Importância Da Microcirurgia Experimental Para Transplantes De Órgãos. **Acta Cir Bras** v. 18, n. 1, p. 59–61 , 2003.

MARTINS, Carlos Eduardo C. *et al.* Effects of leucine supplementation and resistance training on myopathy of diabetic rats. **Physiological Reports** v. 5, n. 10, p. 1–10 , 2017.

MAWSON, A. J. BIOCONVERSIONS FOR WHEY UTILIZATION AND WASTE ABATEMENT. **Biosource Technology** v. 47, p. 195–203 , 1994.

MCADAM, J. *et al.* Effect of Whey Protein Supplementation on Physical Performance and Body Composition in Army Initial Entry Training Soldiers. **Nutrients** v. 10, n. 9, p. 1248 , 2018.

MIGNONE, Linda E. *et al.* Whey protein: The “whey” forward for treatment of type 2 diabetes? **World Journal of Diabetes.** v. 6, n. 14, p. 1274–1284 , 2015.

MITCHELL, Cameron J *et al.* Minimal dose of milk protein concentrate to enhance the anabolic signalling response to a single bout of resistance exercise ; a randomised controlled trial. **journal of the International society of sports Nutrition** v. 14, n. 17, p. 1–11 , 2017.

MÔNICO-NETO, M.; ANTUNES, H. K. M.; DATTILO, M.; MEDEIROS, A.; SOUZA, H. S.; LEE, K. S.; MELO, C. M.; TUFIK, S.; MELLO, M. T. Resistance exercise: a non-pharmacological strategy minimize or reverse sleep deprivation-induced muscle atrophy. **Medical Hypotheses** v. 80, p. 701 - 705, 2013.

MORATO, P. N. *et al.* Whey Protein Hydrolysate Increases Translocation of GLUT-4 to the Plasma Membrane Independent of Insulin in Wistar Rats. **PLoS ONE.** v. 8, n. 8 , 2013.

MORIFUJI, M.; *et al.* Comparison of different sources and degrees of hydrolysis of dietary protein: Effect on plasma amino acids, dipeptides, and insulin responses in human subjects. **Journal of Agricultural and Food Chemistry.** v. 58, n. 15, p. 8788–8797 , 2010.0021-8561.

MORTON, R. W.; MCGLORY, Chris; PHILLIPS, Stuart M. Nutritional interventions to augment resistance training-induced skeletal muscle hypertrophy. **Frontiers in Physiology.** v. 6, n. SEP, p. 1–9 , 2015.

MORTON, R. W. A.; MURPHY, K. T.; MCKELLAR, S. R.; SCHOENFELD, B. J.; HENSELMANS, M.; HELMS, A. A.; ARAGON, M. C.; DEVRIES, M. C.; BANFIELD, L.; KRIEGER, J. W.; PHILLIPS, S. M. A systematic review, meta-analysis and meta-regression of the effect of protein supplementation on resistance training-induced gains in muscle mass and strength in healthy adults. **British Journal of Sports Medicine.** v. 52, n. 6, p. 376–384 , 2018.

NEGRO, M.; VANDONNI, M.; OTTOBRINE, S.; CODRONS, E.; CORREALE, L.; BUONOCORE, D.; MARZATICO, F. Protein supplementation with low fat meat after resistance training: Effects on body composition and strength. **Nutrients** v. 6, n. 8, p. 3040–3049 , 2014.

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de bioquímica de Lheninger**. 6 ed. São Paulo: Artmed; 2014.

NERY, C. S. *et al.* Murinometric evaluations and feed efficiency in rats from reduced litter during lactation and submitted or not to swimming exercise. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**. v. 17, n. 1, p. 49–55 , 2011.

NEVES, R. V. P.; SOUZA, M. K.; PASSOS, C. S.; BACURAU, R. F. P.; SIMÕES, H. .G.; PRESTES, J.; BOIM, M. A.; CÂMARA, N. O. S.; FRANCO, M. C. P.; MORAES, M. R. Treinamento de força em ratos espontaneamente hipertensos com hipertensão arterial grave. **Arquivos Brasileiro de Cardiologia** v. 106, n. 3, p. 201 - 209, 2016.

NICASTRO, Humberto *et al.* An experimental model for resistance exercise in rodents. **Journal of Biomedicine and Biotechnology**. n. 1–7 , 2012.

NOVELLI, E. L B *et al.* Anthropometrical parameters and markers of obesity in rats. **Laboratory Animals**. v. 41, n. 1, p. 111–119 , 2007.

O'NEILL, L. A.J.; KALTSCHMIDT, C. NF- κ B: A crucial transcription factor for glial and neuronal cell function. **Trends in Neurosciences** v. 20, n. 6, p. 252–258 , 1997.

OZAKI, Hayao *et al.* Muscle growth across a variety of exercise modalities and intensities: Contributions of mechanical and metabolic stimuli. **Medical Hypotheses**. v. 88, p. 22–26 , 2016.

PACHECO, Maria Teresa Bertoldo *et al.* Propriedades funcionais de hidrolisados obtidos a partir de concentrados protéicos de soro de leite. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v. 25, n. 2, p. 333–338 , 2005.

PADOVANI, Renata Maria *et al.* Dietary reference intakes: Aplicabilidade das tabelas em estudos nutricionais. **Revista de Nutricao**. v. 19, n. 6, p. 741–760 , 2006.

PAIXÃO, Rita Leal. **Experimentação animal: razões e emoções para uma ética**. Universidade Federal fluminense, 2001. 1-150 p.

PAL, S.; ELLIS, V. The chronic effects of whey proteins on blood pressure, vascular function, and inflammatory markers in overweight individuals. **Obesity**. v. 18, n. 7, p. 1354–1359 , 2010.

PAN, A.; SUN, Q.; BERNSTEIN, A. M. Red meat consumption and risk of type 2 diabetes: 3 cohorts of US adults and an updated meta-analysis. **The American** p. 1–9 , 2011.

PATEL, Seema. Functional food relevance of whey protein: A review of recent findings and scopes ahead. **Journal of Functional Foods** v. 19, p. 308–319 , 2015.

PAUL, G. The Rationale for Consuming Protein Blends in Sports Nutrition. **J Am Coll Nutr**. v. 28, n. 4, p. 464S–472S , 2009.

PAULA, J. C. J.; CARVALHO, A. F.; FURTADO, M. M. Princípios básicos de fabricação de queijo: do histórico à salga. **Revista do Instituto de Laticínios “Cândido Tostes”** v. 64, p. 19–25 , 2009.

PELUCI, M. G. M.; Souza, C. A. J. Aplicação de modelos animais na pesquisa biomédica

experimental Application of animal models in experimental biomedical research. p. 41–58 , 2017.

PHILLIPS, S. M. Protein requirements and supplementation in strength sports. **Nutrition** v. 20, n. 7–8, p. 689–695 , 2004.

_____. The impact of protein quality on the promotion of resistance exercise-induced changes in muscle mass. **Nutrition and Metabolism** v. 13, n. 1, p. 1–9 , 2016.

_____. CHEVALIER, S.; LEIDY, H. J. Protein “requirements” beyond the RDA: implications for optimizing health 1. **Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism** v. 41, n. 5, p. 565–572 , 2016.

PILVI, T. K.; KORPELA, R.; HUTTUNEM, R.; VAPAATALO, H.; MERVAALA, E. M. High-calcium diet with whey protein attenuates body-weight gain in high-fat-fed C57B1/6J mice. **British Journal of Nutrition** v. 5, n. 98, p. 900 - 907, 2007.

PIRES, C. V.; OLIVEIRA, M.; G. A.; ROSA, J. C.; COSTA, N. M. B. Qualidade nutricional e escore químico de aminoácidos de diferentes fontes protéicas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos** v. 26, n. 1, p. 179–187 , 2006.

PIROLI, G. G.; GRILLO, C. A.; REZNIKOV, L. R.; ADAMS, S.; MCEWEN, B. S.; CHARRON, M. J.; REAGAN, L. P. Corticosterone impairs insulin-stimulated translocation of GLUT4 in the rat hippocampus. **Neuroendocrinology** v. 85, n. 2, p. 71–80 , 2007.

POOS, M.; OVERTON, B. **Nutrient Requirements of Laboratory Animals**. 4. ed. Washington, D.C: [s.n.], 1995. 1-192 p. .

PORTER STARR, K. N.; PIEPER, C. F.; ORENDUF, M. C.; MCDONALD, S. R.; MCCLURE, L. B.; ZHOU, R.; PAYNE, M. E.; BALES, C. W. Improved Function with Enhanced Protein Intake per Meal: A Pilot Study of Weight Reduction in Frail, Obese Older Adults. **Journals of Gerontology - Series A Biological Sciences and Medical Sciences** v. 71, n. 10, p. 1369–1375 , 2016.

PULCINELLI, J A. **História e evolução da musculação**. Universidade Federal de Brasília, Brasília - DF, [S.d.]. 1-6 p.

RAMOS, M. L. M.; RAMOS, M. I. L.; ALMEIDA, J. A.; SANCHES, F. L. A Suplementação com amêndoa de bacuri na composição corporal de ratos submetidos ao exercício. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte** v. 23, n. 4, p. 294–299 , ago. 2017.

RAULINO, Andrea Glaucy Davim. **Efeitos de um programa de exercício resistidos e sua relação com o desempenho das atividades da vida diária do deficiente intelectual**. 2012, 111 f. Tese (Ciências da Saúde). Universidade de Brasília, 2012.

REEVES, P. G.; NIELSEN, F. H; FAHEY, G. C. AIN-93 Purified Diets for Laboratory Rodents: Final Report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Writing Committee on the Reformulation of the AIN-76A Rodent Diet. **The Journal of nutrition** v. 123, n. 11, p. 1993.

REIDY, P. T. WALKER, D. K.; DICKINSON, J. M.; GUNDERMANN, D. M.; DRUMMOND, M. J.; TIMMERMAN, K. L.; COPE, M. B.; MUKHERJEA, K. JENNINGS, R.; VOLPI, E.; RASMUSSEN, B. B. Soy-dairy protein blend and whey protein ingestion after

resistance exercise increases amino acid transport and transporter expression in human skeletal muscle. **Journal of Applied Physiology** v. 116, n. 11, p. 1353–1364 , 2014.

REIDY, P. T.; RASMUSSEN, B. B. Role of Ingested Amino Acids and Protein in the Promotion of Resistance Exercise-Induced Muscle Protein Anabolism. **Journal of Nutrition** v. 146, n. 2, p. 155–183 , 2016.

ROGATTO, G. P.; LUCIANO, E. Efeitos do treinamento físico intenso sobre o metabolismo de carboidratos. **Atividade Física e Saúde** v. 6, n. 2, p. 39–46 , 2001.

ROGATTO, GUSTAVO PUGGINA; LUCIANO, Eliete. Influência treinamento físico intenso sobre o metabolismo de proteínas. **Motriz** v. 7, n. 2, p. 75–82 , 2001.

ROGATTO, Gustavo Puggina *et al.* Respostas metabólicas agudas de ratos Wistar ao exercício intermitente de saltos. **Motriz** v. 10, n. 2, p. 61–66 , 2004.

SARWAR, Ghulam. The Protein Digestibility–Corrected Amino Acid Score Method Overestimates Quality of Proteins Containing Antinutritional Factors and of Poorly Digestible Proteins Supplemented with Limiting Amino Acids in Rats. **J Nutr** v. 127, n. 5, p. 758–764 , 1997.

SASAKI, Hiroyuki *et al.* Forced rather than voluntary exercise entrains peripheral clocks via a corticosterone / noradrenaline increase in PER2 :: LUC mice. **Nature Publishing Group** n. May, p. 1–15 , 2016.

SCHOENFELD, B.; JON; ARAGON, A. A. How much protein can the body use in a single meal for muscle-building? Implications for daily protein distribution. **Journal of the International Society of Sports Nutrition** v. 15, n. 1, p. 4–9 , 2018.

SELYE, Hanz. Forty years of stress research: principal remaining problems and misconceptions. **Canadian Medical Association Journal** v. 115, n. 1, p. 53–56 , 1976.0008-4409 (Print).

SGARBIERI, Valdemiro Carlos. proteínas do soro de leite das Physiological-functional properties of milk whey. v. 17, n. 4, p. 397–409 , 2004.

SILVA, Carlos Alberto Jr. *et al.* A anatomia de Willian Harvey. **Revista científica Eletrônica de Medicina Veterinária** v. 6, n. 11, p. 1–5 , 2008.

SIZER, S. S.; WHITNEY. *Nutrição: conceitos e controvérsias*. 8 ed. Barueri, SP: Manole, 2003.

SMITHERS, Geoffrey W. *et al.* New Opportunities from the Isolation and Utilization of Whey Proteins. **Journal of Dairy Science** v. 79, n. 8, p. 1454–1459 , 1996.

SMITHERS, Geoffrey W. Whey-ing up the options - Yesterday, today and tomorrow. **International Dairy Journal** v. 48, p. 2–14 , 2015.

SOLA, O. M.; CHRISTENSEN, D. L.; MARTIN, A. W. Hypertrophy and hyperplasia of adult chicken anterior latissimus dorsi muscles following stretch with and without denervation. **Experimental Neurology** v. 41, n. 1, p. 76–100 , 1973.

SOUSA, Gabriela Td *et al.* Dietary whey protein lessens several risk factors for metabolic

diseases: A review. **Lipids in Health and Disease** v. 11, n. 67, p. 1–9 , 2012.

SOUSA NETO, Ivo Vieira *et al.* Effects of Resistance Training Volume on MMPs in Circulation, Muscle and Adipose Tissue. **International journal of sports medicine** v. 38, n. 4, p. 307–313 , 2017.

SOUZA *et al.* Resistance training improves body composition and increases matrix metalloproteinase 2 activity in biceps and gastrocnemius muscles of diet-induced obese rats. **Clinics** v. 69, n. 4, p. 265–270 , 2014.

SOUZA, Rodrigo Wagner Alves *et al.* High-Intensity Resistance Training with Insufficient Recovery Time Between Bouts Induce Atrophy and Alterations in Myosin Heavy Chain Content in Rat Skeletal Muscle. **Anatomical Record** v. 294, n. 8, p. 1393–1400 , 2011.

SPALATELU, Constanța. Biotechnological valorisation of cheese whey. **Innovative Romanian Food Biotechnology** v. 10, n. March, p. 1–8 , 2012.

STANSTRUP, Jan *et al.* Effect of whey protein supplementation after resistance exercise on the muscle mass and physical function of healthy older women: A randomized controlled trial. **Food and Function** v. 8, n. 6, p. 801–807 , 2017.

STEWART, C. E H; RITTWEGGER, J?rn. Adaptive processes in skeletal muscle: Molecular regulators and genetic influences. **Journal of Musculoskeletal Neuronal Interactions** v. 6, n. 1, p. 73–86 , 2006.

STOKES, Tanner *et al.* Recent perspectives regarding the role of dietary protein for the promotion of muscle hypertrophy with resistance exercise training. **Nutrients** v. 10, n. 2 , 2018.

STRICKLAND, Justin C; SMITH, Mark A. Animal models of resistance exercise and their applications to neuroscience research. **Jounal Neurosci methods** v. 273, n. 1, p. 191–200 , 2017.

TAMAKI, T. U.; S.; S. A weight-lifting exercise model for inducing hypertrophy in the hindlimb muscles of rats. **Medicine and Science in Sports and Exercise** v. 24, n. 8, p. 881–886 , 1992.

TANG, Jason E.; PHILLIPS, Stuart M. Maximizing muscle protein anabolism: The role of protein quality. **Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care** v. 12, n. 1, p. 66–71 , 2009.

TANG, Jason E *et al.* Regulation of Protein Metabolism in Exercise and Recovery Ingestion of whey hydrolysate , casein , or soy protein isolate : effects on mixed muscle protein synthesis at rest and following resistance exercise in young men. **Journal of applied physiology** v. 107, p. 987–992 , 2009.

TARNOPOLSKY, Mark. Protein requirements for endurance athletes. **Nutrition** v. 20, n. 7–8, p. 662–668 , 2004.

TAYLOR, Benjamin A.; PHILLIPS, Sandra J. Detection of obesity QTLs on mouse chromosomes 1 and 7 by selective DNA pooling. **Genomics** v. 34, n. 3, p. 389–398 , 1996.

THOMSEN, P; LUCO, J V. Changes of weight and neuromuscular transmission in muscles of

immobilized joints. **Journal of Neurophysiology** v. 7, n. 4, p. 245–251 , jul. 1944.

TIBANA *et al.* Enhancing of women functional status with metabolic syndrome by cardioprotective and anti-inflammatory effects of combined aerobic and resistance training. **PLoS ONE** v. 9, n. 11, p. 1–8 , 2014.

TIDBALL, J. G. Mechanical signal transduction in skeletal muscle growth and adaptation. **Journal of Applied Physiology** v. 98, n. 5, p. 1900–1908 , 2005.

TIRAPÉGUI; ROGERO, Marcelo Macedo. Metabolismo de proteínas. **Fisiologia da nutrição humana: aspectos básicos, aplicados e funcionais**. 2. ed. Rio de Janeiro: Atheneu, 2007. p. 69–109.

TOMÉ, Daniel. Criteria and markers for protein quality assessment - A review. **British Journal of Nutrition** v. 108, n. SUPPL. 2, p. 222–229 , 2012.

TOMÉ, Daniel. Protein: what's on in research on clinical nutrition. **European Journal of Clinical Nutrition** v. 72, n. 9, p. 1215–1220 , 2018.

VAN NIELEN, M.; FESKENS, E. J. M.; MENSINK, M.; SLUIJS, I.; MOLINA, E.; AMIANO, P.; ARDANAZ, E.; BALKAU, B.; BEULENS, J. W. J.; BOEING, H.; CLAVEL-CHAPELON, F.; FAGHERAZZI, G.; FRANKS, P. W.; HALKJAER, J.; HUERTA, J. M.; KATZKE, V.; KEY, T. J.; KHAW, K. T.; KROGH, V.; KÜHN, T.; MENÉNDEZ, V. V. M.; NILSSON, P.; OVERVAD, K.; PALLI, D.; PANICO, S.; ROLANDSSON, O.; ROMIEU, I.; SACERDOTE, C.; SÁNCHEZ, M. J.; SCHULZE, M. B.; SPIJKERMAN, A. M. V.; TJONNELAND, A.; TUMINO, R.; DAPHNE, L. A.; WÜRTZ, A. M. L.; ZAMORA-ROS, R.; LANGENBERG, C.; SHARP, S. J.; FOROUHI, N. G.; RIBOLLE, E.; WAREHAM, N. J. Dietary protein intake and incidence of type 2 diabetes in Europe: The EPIC-InterAct case-cohort study. **Diabetes Care** v. 37, n. 7, p. 1854–1862 , 2014.

VERREIJEN, A. M.; ENGBERINK, M. F.; MEMELINK, R. G.; PLAS, S. E.; VISSER, M.; WEIJS, P. J. M. Effect of a high protein diet and/or resistance exercise on the preservation of fat free mass during weight loss in overweight and obese older adults: a randomized controlled trial. **Nutrition Journal** v. 16, n. 1, p. 1–8 , 2017.

VILARTA, Roberto. **Saúde coletiva e Atividade Física**. Campinas: IPES, 2007. p. 33–38.

VIRTANEN, H. E. K.; KOSKINEN, T. T.; VOUTILAINEN, MURSU, J.; S.; TUOMAINEN, T. P.; KOKKO, P. VIRTANEN, J. K. Intake of different dietary proteins and risk of type 2 diabetes in men: the Kuopio Ischaemic Heart Disease Risk Factor Study. **British Journal of Nutrition** v. 117, n. 06, p. 882–893 , 2017.

VOLEK, J. S.; VOLK, B. M.; GÓMEZ, A. L.; KUNCES, L. J.; KUPCHAK, B. R.; FREIDENREICH, D. J.; ARISTIZABAL, J. C.; SAENZ, C.; DUNN-LEW, C.; BALLARD, K. D.; QUANN, E. E.; KAWIECKI, M. L.; FLANAGAN, S. D.; COMSTOCK, B. A.; FRAGALA, M. S.; EARP, J. E.; FERNANDEZ, M. L.; BRUNO, R. S.; PTOLEMY, A. S.; KELLOGG, M. D.; MARESH, C. M.; KRAEMER, W. J. Whey Protein Supplementation During Resistance Training Augments Lean Body Mass. **Journal of the American College of Nutrition** v. 32, n. 2, p. 122–135 , 2013.

WANG, Z. YING, Z.; BOSY-WESTPHAL, A.; ZHANG, J. SCHAUTZ, B.; LATER, B.; HEYMSFIELD, S. B.; MÜLLER, M. J. Specific metabolic rates of major organs and tissues

across adulthood: evaluation by mechanistic model of resting energy expenditure. **The American journal of clinical nutrition** v. 92, n. 6, p. 1369–77 , dez. 2010.

WATANABE, R.; MONTEIRO, B. P.; EVANGELISTA, M. C.; CASTONGUAY, A.; EDGE, D.; STEAGALL, P. V. The analgesic effects of buprenorphine (Vetergesic or Simbadol) in combination with carprofen in dogs undergoing ovariohysterectomy: a randomized, blinded, clinical trial. v. 304, n. 14, p. 1–7 , 2018.

WEICKERT, M. O.; PFEIFFER, A. F. H.; Impact of dietary fiber consumption on insulin resistance and the prevention of type 2 diabetes. **Journal of Nutrition** v. 148, n. 1, p. 7–12 , 2018.

WEIGLE, D. S.; BREEN, P. A.; MATTHYS, C. C.; CALLAHAN, H. S.; MEEUWS, K. E.; BURDEN, V. R.; PURNELL, J. Q. A high-protein diet induces sustained reductions in appetite , ad libitum caloric intake , and body weight despite compensatory changes in diurnal plasma leptin and ghrelin concentrations 1 – 3. **American journal of clinical nutrition** v. 82, n. 1, p. 41–48 , 2005.

WERNBOM, M.; AUGUSTSSON, J.; THOME, R.. The Influence of Frequency , Intensity , Volume and Mode of Strength Training on Whole Muscle Cross-Sectional Area in Humans. **Sports Medicine** v. 37, n. 3, p. 225–264 , 2007.

WEST, D. W. D.; BURD, N. A.; STAPLES, A. W.; PHILLIPS, S. M. Human exercise-mediated skeletal muscle hypertrophy is an intrinsic process. **The international journal of biochemistry & cell biology** v. 42, n. 9, p. 1371–5 , set. 2010.

WEST, D. W. D.; BURD, N. A.; COFFEY, G. V.; BAKER, S. K.; BURLE, L. .; HAWLEY, J. MOORE, D. R.; STELLINGWERFF, T.; PHILLIPS, S. M. Rapid aminoacemia enhances myofibrillar protein synthesis and anabolic intramuscular signaling responses after resistance exercise. **Am J Clin Nutr** v. 94, n. 3, p. 795–803 , 2011.

WESTERTERP-PLANTENGA, M. S. NIEUWENHUIZEN, A.; TOMÉ, D. SOENEN, S.; WESTERTERP, K. R. Dietary Protein, Weight Loss, and Weight Maintenance. **Annual Review of Nutrition** v. 29, n. 1, p. 21–41 , 2009.

_____. ROLAND, V.; WILSON, S. A. J.; Satiety related to 24 h diet-induced thermogenesis during high protein/carbohydrate vs high fat... **European Journal of Clinical Nutrition** v. 53, n. 6, p. 495 , 1999.

_____. LEMMENS, S. G.; WESTERTERP, K. R.; WESTERTERP, K. R. Dietary protein - Its role in satiety, energetics, weight loss and health. **British Journal of Nutrition** v. 108, n. SUPPL. 2, p. S105–S112 , 2012.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Protein and aminoacid requeriments in human nutrition**. WHO. Tchnic ed. Geneva, Switzerland: WHO, 2007. 1-265 p. .

WITARD, O. C; WARDLE, S. L.; MACNAUGHTON, L. S.; HODGSON, A. B.; TIPTON, K. D. Protein Considerations for Optimising Skeletal Muscle Mass in Healthy Young and Older Adults. **Nutrients** v. 4, n. 8, p. 1–25 , 2016.

WONG, T. S.; BOOTH, F. W. Skeletal muscle enlargement with weight-lifting exercise by rats. **American Physiological Society** v. 2, n. 65, p. 950 - 954, 1988.

XU, N.; HOSSAIN, M.; LIU, L. Pharmacological inhibition of p38 mitogen-activated protein kinases affects KC/CXCL1-induced intraluminal crawling, transendothelial migration, and chemotaxis of neutrophils in vivo. **Mediators of Inflammation** v. 2013 , 2013.

YALCIN, A. S. Emerging Therapeutic Potential of Whey Proteins and Peptides. **Current Pharmaceutical Design** v. 12, n. 13, p. 1637–1643 , 2006.

YARASHESKI, K. E.; LEMON, P. W. R.; GILLOTEAUX, J. Effect of heavy-resistance exercise training on muscle fiber composition in young rats. **Journal Applied Physiology** v. 2, n. 69, p. 434 - 437, 1990.

YOU, J.; ANDERSON, G. B; DOOLEY, M. S.; HORNBERGER, T. A. The role of mTOR signaling in the regulation of protein synthesis and muscle mass during immobilization in mice. **Disease Models & Mechanisms** v. 8, n. 9, p. 1059–1069 , 2015.

ŻEBROWSKA-GAMDZYK, M.; MACIEJCZYK, M.; ZALEWSKA, A.; GUZINSKA-USTYMOWICZ, K.; TOKAJUK, A. Whey Protein Concentrate WPC-80 Intensifies Glycoconjugate Catabolism and Induces Oxidative Stress in the Liver of Rats. **Nutrients** v. 10, n. 9, p. 1–18, 2018.

ANEXO A - CERTIFICADO DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA DE USO DE ANIMAIS DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL - UFMS



Serviço Público Federal
Ministério de Educação
Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul



C E R T I F I C A D O

Certificamos que a proposta intitulada "Efeitos da bocaíva (*Aerococma aculeata*) em respostas ao treinamento de força: novos caminhos para o entendimento da hipertrofia e metabolismo", registrada com o nº 854/2017, sob a responsabilidade de Jeiser Alves de Almeida - que envolve a utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata, para fins de pesquisa científica – encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS/CEUA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL/UFMS, na 4ª reunião ordinária do dia 12/05/2017.

FINALIDADE	<input type="checkbox"/> Ensino <input checked="" type="checkbox"/> Pesquisa Científica
Vigência da autorização	20/03/2017 a 31/03/2019
Especie/Linhagem/Raça	<i>Rattus norvegicus</i> / Wistar
Nº de animais	60
Peso/Idade	200g / 45 dias
Sexo	Machos
Origem	Biotério Central/CCBS/UFMS

Maria Araújo Teixeira
 Maria Araújo Teixeira
 Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais
 CEUA/UFMS

Maria Araújo Teixeira
 Coordenadora da CEUA/UFMS
 Campo Grande, 15 de maio de 2017.

Comissão de Ética no Uso de Animais/CEUA
<http://www.proop.ufms.br/ceua>
ceua.2000@gmail.com
 fone (67) 3345-7925