

UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

**SUPLEMENTAÇÃO COM PROTEÍNA ISOLADA DE SOJA ATENUA
DANO MUSCULAR PROVOCADO PELO EXERCÍCIO EM RATOS
*Wistar.***

JULIANE ZULIN

Dourados - MS

2017

JULIANE ZULIN

**SUPLEMENTAÇÃO DE PROTEÍNA ISOLADA DE SOJA COM
ADIÇÃO DE LEUCINA NO DANO MUSCULAR EM RATOS *WISTAR*
EXERCITADOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde.

Área de concentração: Farmacologia

Orientador: Prof. Dr. Pablo Christiano Barboza Lollo

Dourados - MS

2017

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).

Z94s Zulin, Juliane

SUPLEMENTAÇÃO COM PROTEÍNA ISOLADA DE SOJA ATENUA DANO MUSCULAR PROVOCADO PELO EXERCÍCIO EM RATOS WISTAR. [recurso eletrônico] / Juliane Zulin. -- 2019.

Arquivo em formato pdf.

Orientador: Pablo Christiano Barboza Lollo.

Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde)-Universidade Federal da Grande Dourados, 2017.

Disponível no Repositório Institucional da UFGD em:

<https://portal.ufgd.edu.br/setor/biblioteca/repositorio>

1. Suplementos esportivos. 2. Exercício de força. 3. Lesões musculares. 4. Marcadores bioquímicos. I. Lollo, Pablo Christiano Barboza. II. Título.

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

©Direitos reservados. Permitido a reprodução parcial desde que citada a fonte.



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

ATA DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO APRESENTADA POR JULIANE ZULIN, ALUNA DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU* EM CIÊNCIAS DA SAÚDE, ÁREA DE CONCENTRAÇÃO "FARMACOLOGIA", REALIZADA NO DIA 06 DE OUTUBRO DE 2017.

Ao sexto dia do mês de outubro do ano de dois mil e dezessete (06/10/2017), às 16h, em sessão pública, realizou-se, no Auditório da Faculdade de Ciências da Saúde, da Universidade Federal da Grande Dourados, a Defesa de Dissertação de Mestrado intitulada "Marcadores de dano muscular em ratos Wistar suplementados com composto de proteína de soja e leucina pós-exercício." apresentada pela mestranda JULIANE ZULIN, do Programa de Pós-Graduação Mestrado em Ciências da Saúde, à Banca Examinadora constituída pelos professores Dr. Pablo Christiano Barboza Lollo (Presidente/orientador), Dra. Elisvânia Freitas dos Santos (membro titular/externo) e Dra. Kátia Wolff Cordeiro (membro titular/externo). Iniciada sessão, a presidência deu a conhecer à candidata e aos integrantes da Banca as normas a serem observadas na apresentação da Dissertação. Após a candidata ter apresentado a sua Dissertação, no tempo previsto de 20 até 30 minutos, os componentes da Banca Examinadora fizeram suas arguições, que foram intercaladas pela defesa do candidato, no tempo previsto de até 240 minutos. Terminadas as arguições, a Banca Examinadora, em sessão secreta, passou ao julgamento, tendo sido a candidata considerada **APROVADA**, fazendo *jus* ao título de **MESTRE EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**. Nada mais havendo a tratar, lavrou-se a presente ata, que vai assinada pelos membros da Banca Examinadora.

Dourados, 06 de outubro de 2017.

Dr. Pablo Christiano Barboza Lollo _____

Dra. Elisvânia Freitas dos Santos _____

Dra. Kátia Wolff Cordeiro _____

ATA HOMOLOGADA EM: __/__/__, PELA PRÓ-REITORIA DE ENSINO DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA / UFGD.

Profa. Kely de Picoli Souza
Pró-Reitora de Ensino de Pós-Graduação e Pesquisa

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a todos aqueles que contribuíram para sua realização. Agradeço a Deus e aos meus pais que foram apoio em todos os momentos difíceis e dignamente me apresentaram a importância da família, o caminho da honestidade e a persistência.

AGRADECIMENTOS

À Deus... Por me conceder saúde, persistência e resiliência nos momentos difíceis.

Aos meus pais pelo apoio e segurança ao longo dessa jornada.

Ao **Prof. Pablo**, o meu reconhecimento pela oportunidade de realizar este trabalho ao lado de alguém que transpira sabedoria; meu respeito e admiração pela sua capacidade de analisar o perfil de seus alunos, e pelo dom de ensinar, com respeito, eficiência e simplicidade.

A realização de um projeto de pesquisa como este só foi possível com o apoio de várias pessoas. Aos alunos, professores e colaboradores da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD) e Universidade Federal do Mato Grosso do Sul que direta ou indiretamente contribuíram de alguma forma, o meu reconhecimento e gratidão.

Aos amigos do meu grupo de mestrado, **Valfredo** (Fred) e **Fernanda** que foram quase uma família durante todo o processo, me ajudando, auxiliando quando surgiam as dúvidas, colaborando nos projetos, com sugestões, paciência e carinho.

À minha amiga **Ronilze**, e minha Tia **Áurea** pelo incentivo e oportunidade de convívio durante a realização das disciplinas e período experimental do meu projeto, me acolhendo em seus lares com tamanho carinho, fazendo com que me sentisse em casa.

EPÍGRAFE

“A mente que se abre a uma nova ideia jamais
voltará ao seu tamanho original”.

(Albert Einstein)

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

ACR	Aminoácidos de Cadeia Ramificada
ALT	Alanina Aminotransferase
AST	Aspartato Aminotransferase
BCAAs	Branch Chain Amino Acids (Aminoácidos de Cadeia Ramificada)
CA	Caseína
CHO	Carboidrato
CK	Creatina Quinase
CK-mb	Creatina quinase músculo cardíaco
CK-nac	Creatina Quinase total
LEU	Leucina
mTOR	Mammalian target of rapamicin (Alvo da Rapamicina em Mamíferos)
PIS	Proteína Isolada de Soja
PSL	Proteína do soro do leite
PTN	Proteína
PTN/kg/dia	Proteína por quilo de peso ao dia
RNA	Ácido ribonucleico
RNAm	Ácido Ribonucleico Mensageiro
WP	Whey Protein
WPI	Whey Protein isolate

RESUMO

Exercícios extenuantes ou com intensidades muito elevadas podem gerar processos indesejáveis como lesões na estrutura muscular e elevação nos níveis de marcadores bioquímicos de dano muscular. Neste contexto, este trabalho teve por objetivo comparar os efeitos da proteína isolada de soja, a proteína isolada de soja com adição de leucina e a proteína isolada do soro do leite nos principais marcadores de dano muscular pós-exercício, sabendo que o aminoácido leucina está intimamente ligado à síntese proteica, que consequentemente tem papel na recuperação muscular. Ratos Wistar foram distribuídos em 3 grupos: controle proteína isolada do soro do leite (WPI), proteína isolada de soja (SPI) + leucina e proteína isolada de soja. Após quatro horas de jejum os animais então, foram submetidos ao exercício agudo em modelo de levantamento de peso sendo em seguida, investigado o efeito do consumo dos compostos proteicos nos principais marcadores de lesão muscular no sangue. Todos os animais foram submetidos a um nível de stress considerável e o grupo que consumiu proteína isolada de soja apresentou níveis menores de CK-nac, CK-mb e LDH comparado ao grupo que consumiu apenas proteínas do soro do leite, não diferindo significativamente ($p > 0,05$) do grupo que recebeu a proteína isolada de soja com adição de leucina. Para AST, ALT e proteínas totais não houve diferença entre os grupos.

A recuperação muscular envolve diversos processos e para manter a homeostase e se adaptar ao estresse fisiológico, esta reparação é dependente de balanço nitrogenado positivo (síntese maior que a degradação). E sabe-se também que a leucina tem papel fundamental na ativação dos marcadores intracelulares de síntese proteica (mTOR). No entanto, no grupo que consumiu proteína isolada de soja os níveis de dano muscular foram atenuados de forma estatisticamente superior à proteína do soro do leite e não diferiu no grupo com adição de leucina. Ou seja, tais resultados podem estar envolvidos com a quantidade adicionada e a sinergia com outros aminoácidos que podem ter atuado no mecanismo de ressíntese proteica, e que possivelmente sejam influenciados pela prolongada e constante aminoacidemia provocados pela proteína isolada de soja.

Palavras-chave: Suplementos esportivos. Exercício de força. Lesões musculares. Marcadores bioquímicos.

ABSTRACT

Extenuating exercises or with very high intensities can generate undesirable processes like injuries in the muscular structure and elevation in the levels of biochemical markers of muscle damage. In this context, the objective of this study was to compare the effects of isolated soy protein, isolated soy protein with addition of leucine and isolated whey protein on the main markers of post-exercise muscle damage, knowing that the amino acid leucine is closely linked to protein synthesis, which consequently plays a role in muscle recovery. Wistar rats were divided into 3 groups: control whey protein isolate (WPI), isolated soy protein (SPI) + leucine and isolated soy protein. After four hours of fasting, the animals were submitted to the acute exercise in a weight-lifting model, and the effect of the protein compounds on the main markers of muscle injury in the blood was investigated. All animals were submitted to a considerable stress level and the group that consumed isolated soy protein had lower levels of CK-nac, CK-mb and LDH compared to the group that consumed only whey proteins, but did not differ significantly ($p > 0.05$) of the group receiving leucine addition soy protein isolate. For AST, ALT and total proteins there was no difference between groups. Muscle recovery involves several processes and to maintain homeostasis and adapt to physiological stress, this repair is dependent on positive nitrogen balance (synthesis greater than degradation). It is also known that leucine plays a key role in the activation of intracellular protein synthesis markers (mTOR). However, in the group that consumed isolated soy protein the levels of muscle damage were attenuated statistically higher than the whey protein and did not differ in the leucine addition group. That is, such results may be involved with the added amount and synergy with other amino acids that may have acted on the mechanism of protein resynthesis, and which may be influenced by the prolonged and constant aminoacidemia caused by the isolated soy protein.

Keywords: Sports supplements. Strength exercise. Muscle injuries. Biochemical markers.

SUMÁRIO

Listas de abreviaturas e símbolos	vi
RESUMO.....	vii
ABSTRACT.....	viii
1 INTRODUÇÃO.....	10
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	13
2.1 Exercício de Força.....	13
2.2 Exercício de Força e Dano Muscular.....	14
2.3 Recuperação Muscular e Síntese Proteica.....	16
2.4 Consumo de Proteínas e Recuperação Muscular.....	17
2.4.1 Proteínas do Soro do Leite.....	18
2.4.2 Proteína de Soja.....	19
3 OBJETIVOS.....	20
4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	21
5 APÊNDICES.....	28
5.1 Artigo:Suplementação com proteína isolada de soja atenua dano muscular provocado pelo exercício em ratos <i>Wistar</i>	29
6 Parecer de Aprovação do Comitê de Ética (CEUA).....	45

1 INTRODUÇÃO

A prática de atividade física traz vários benefícios à saúde, entretanto, exercícios extenuantes, ou com intensidades muito elevadas podem gerar também processos indesejáveis, como lesões na estrutura muscular que culminam em elevação dos níveis de marcadores bioquímicos de dano muscular (PROSKE, 2001). Em geral, o exercício físico, proporciona um stresse mecânico que induz ao dano muscular seguido por resposta inflamatória aguda: dor, oxidação de aminoácidos, perda de água e micronutrientes (BUCKLEY, 2010).

A creatina quinase (CK), lactato desidrogenase (LDH), aspartato aminotransferase (AST) são enzimas descritas como os principais marcadores de dano muscular (BAPTISTELLA, 2009; GONZÁLEZ; SILVA, 2006). Dentre essas moléculas, a CK é comumente descrita como padrão ouro de marcador indireto de dano; principalmente após o exercício de força ou outros exercícios de longa duração (FOSCHINI; PRESTES; HARRARO, 2007). A redução da degradação proteica é primordial para a recuperação muscular. Nesse contexto se faz necessário produzir um ambiente de balanço energético positivo (síntese maior que degradação), (FRY, 2004); onde se tenha energia suficiente para garantir melhor desempenho e, conseqüentemente, retardar o início da fadiga (AOI, NAITO, YOSHIKAWA, 2006).

Além de alimentação saudável, rica em nutrientes, vitaminas e minerais, o aporte proteico se faz necessário para controlar os danos, melhorar a recuperação das fibras musculares e induzir a síntese. Para isso, atualmente estão disponíveis diversos suplementos no mercado; entre eles, os produzidos a partir das proteínas do soro do leite e das proteínas da soja. A proteína do soro do leite é obtida a partir da parte líquida extraída durante a fabricação do queijo, ou seja, o subproduto da coagulação do leite (MOLLEA et al., 2013), compreende cerca de 20% da proteína total do leite bovino e é constituído principalmente por lactoglobulinas (50%), a-lactalbumina (25%), albumina do soro (7%), imunoglobulinas (5%) e contém concentrações elevadas de aminoácidos de cadeia ramificada (valina, isoleucina e leucina), (YOSHIKAWA, 2004). Possui em especial, maior teor de leucina em comparação a outras proteínas de alto valor biológico e têm sido alvo de diversas pesquisas devido ao seu perfil de aminoácidos, digestibilidade e rápida absorção (TANG; PHILLIPS, 2009).

A proteína isolada de soja também é uma fonte proteica viável para suprir as demandas aminoacídicas dos sujeitos fisicamente ativos, pois é considerada uma proteína de

boa qualidade, digestibilidade e absorção. A liberação de aminoácidos no sangue tanto com a proteína de soja quanto com a proteína do soro é “considerada” rápida, pois ambas são solúveis no pH baixo do estômago, embora a soja ainda seja absorvida mais lentamente que a proteína do soro do leite (BEAUFRERE; DANGIN; BOIRIE, 2000; BOS et al., 2003). Além disso, a proteína de soja é uma fonte importante de aminoácidos essenciais e contém compostos com propriedades antioxidantes, incluindo as isoflavonas que possuem papel anti-inflamatório, imuno-protetor, cardioprotetor e anticâncer (GALLEANO et al., 2012; KERWIN, 2004).

Está descrito na literatura que nove aminoácidos são considerados essenciais, pois devem ser consumidos através da dieta em razão de não serem sintetizados endogenamente. Entre eles, estão os aminoácidos de cadeia ramificada (ACR) bastante utilizados por atletas, sendo reconhecidos por promover anabolismo proteico muscular, atuar em relação à fadiga central, favorecer a secreção de insulina, atuar no sistema imune, diminuir o grau de lesão muscular induzido pelo exercício e melhorar o desempenho. Destacam-se a leucina, isoleucina e valina que representam 35% de aminoácidos essenciais em proteínas musculares (Rogerio e Tirapegui, 2008). Dentre os prováveis mecanismos, sobressai a possibilidade dos ACR diminuírem a degradação proteica pós-exercício e o fato da leucina poder estimular a síntese proteica, pois não age só como substrato, mas também como sinalizador metabólico (ROGERO; TIRAPEGUI, 2008).

Tang et al, (2009) relataram uma resposta superior do soro do leite comparada à proteína de soja na síntese muscular em homens jovens e idosos no repouso e após exercício, com resultados semelhantes. Neste mesmo estudo sugere-se que ambos os resultados tiveram relação com o teor de leucina mais elevado na proteína do soro do leite. Outros estudos corroboram com o anterior, dizendo que a resposta mais atenuada na síntese de proteínas tem sido atribuída principalmente à diferença no perfil de aminoácidos, sendo a soja menos rica em leucina, aminoácido chave no estímulo a síntese de proteínas musculares (PHILLIPS et al., 2009; KIMBALL; JEFFERSON, 2006).

Mata e Navarro (2009), relatam que a leucina promove a síntese e inibe a degradação proteica através de mecanismos envolvendo uma proteína quinase denominada alvo da rapamicina em mamíferos (Mammalian Target of Rapamycin - mTOR). A mTOR é uma das principais vias metabólicas ativadas durante o exercício de força e seu papel é integrar sinais nutricionais, mitocondriais e controlar a síntese proteica (PROUD 2002; RAUGHT et al., 2001). Ela estimula a síntese proteica principalmente por meio de três proteínas regulatórias chave: a proteína 1 ligante do fator de iniciação eucariótico 4E (4E-BP1); a proteína quinase ribossomal S6 de 70 kDA (p70S6k); e o fator de iniciação eucariótico 4G (eIF4G). Tais descobertas mostram que a leucina desempenha papéis importantes além da sua função como aminoácido essencial.

Portanto, a proposta deste projeto é verificar os efeitos da adição de leucina em um suplemento de proteína isolada de soja e comparar com um suplemento a base de proteína isolada do soro do leite, principalmente sobre sua ação nos marcadores de dano muscular pós-exercício.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Exercício de força

O exercício de força caracteriza-se por contrações voluntárias da musculatura esquelética de um determinado grupo muscular contra alguma resistência externa, ou seja, contra uma força contrária ao movimento, a qual pode ser dada por pesos livres, pela própria massa corporal, ou por equipamentos como aparelhos de musculação (MCARDLE; KATCH; KATCH, 2011).

Por definição, exercício físico é um subconjunto de atividades físicas realizadas de forma planejada, estruturada e repetitiva que tem como objetivo final a melhoria ou manutenção do condicionamento físico (CASPERSEN et al., 1985). As adaptações em longo prazo advêm do acúmulo dos efeitos agudos provenientes do estresse mecânico e fisiológico induzidos pelo exercício. E tem como fatores determinantes, a intensidade, duração, frequência e a modalidade de exercício praticado (EGAN, 2013).

É sabido que o exercício resistido ou de força aumenta a massa muscular, enquanto o exercício aeróbico melhora o metabolismo oxidativo (VAN WESSEL et al., 2010). Após o exercício, o músculo esquelético passa a responder a diversos tipos de estímulos fisiológicos externos, e a partir deles sofre adaptações. Estes sinais interagem resultando em alterações na transcrição gênica e síntese proteica que, por conseguinte geram o remodelamento da musculatura por meio da ativação das vias de sinalização intracelular (TIAGO et al, 2008).

Uma das principais vias ativadas durante o exercício de força está ligada a uma proteína denominada mTOR (mammalian target of rapamycin). Seu papel é integrar sinais nutricionais, mitocondriais e o exercício de força para controlar a síntese proteica (PROUD 2002; RAUGHT et al., 2001). A fosforilação da mTOR estimula a síntese por meio de três proteínas reguladoras: iniciador eucariótico do fator 4G (eIF4G), ^{S6k} P70 ribossomal S6 quinase (P70) e o iniciador eucariótico do fator 4E [eIF4E] na proteína de ligação 1(4E-BP1), (ANTHONY et al., 2000).

Alguns autores associam a iniciação desse mecanismo ao aminoácido leucina (ANTHONY et al., 2000; TANG et al., 2009). A estimulação da mTOR por nutrientes ou insulina ativa a p70, que fosforila a proteína S6. Isto resulta na tradução do RNA mensageiro (mRNA) que leva a síntese proteica. Além disso, a mTOR catalisa o fator de iniciação eucariótico 4E-BP1 em eIF4E que forma o complexo eIF4F e permite o início da tradução das proteínas (AVRUCH et al., 2001). Todo esse processo de fosforilação das proteínas

produz o aumento da biossíntese ribossomal, progressão do ciclo celular e conseqüentemente a hipertrofia (SINGH et al., 2008).

2.2 Exercício de Força e Marcadores bioquímicos de Dano Muscular

Durante e após o exercício físico, o organismo apresenta inúmeras respostas metabólicas. Quando o exercício é realizado de forma intensa e contínua ocasiona alterações nas membranas celulares, como lesões nas fibras musculares acompanhadas de processos inflamatórios e extravasamento de enzimas no sangue (NOSAKA, 1995).

Essas lesões podem ocorrer nas estruturas musculares em razão da sobrecarga mecânica imposta, como por exemplo, na realização de exercícios de força, principalmente em movimentos com contração muscular excêntrica (alongamento muscular), como por exemplo, flexão de cotovelos, corrida em declive ou descer escadas (FOSCHINI; PRESTES; HARRARO, 2007) além da prática de exercício físico extenuante e inabitual (DUARTE et al., 2001; FLECK, 2006).

Embora os mecanismos exatos para explicar essas mudanças não tenham sido bem delineados, a lesão inicial é atribuída à ruptura mecânica da fibra e danos seguintes estão vinculados a processos inflamatórios e a mudanças nos processos de contração e relaxamento dentro do músculo. São descritas como estruturas que podem sofrer dano, as linhas Z, sarcolema, túbulos T e miofibrilas (FOSCHINI; PRESTES; HARRARO, 2007).

Proske e Allen (2005) descreveram teoricamente que a cada vez que ocorre o relaxamento muscular entre as séries, alguns sarcômeros estirados podem não se reintegrar, resultando em seu rompimento. Com isso, a homeostase do cálcio é alterada, permitindo sua entrada na célula. Isso provoca a ativação de diferentes vias moleculares no músculo, que pode iniciar a degradação das miofibrilas, o que implica em extravasamento dos componentes celulares para fora da célula. Essas substâncias iniciam o processo inflamatório no local da lesão, resultando em fagocitose do tecido necrosado (TRICOLI, 2001; PROSKE; ALLEN; 2005; TIDUS, 2008).

O dano muscular provocado pelo exercício físico pode ser analisado por métodos diretos e indiretos. Os métodos diretos são obtidos através da análise de biópsias do tecido muscular ou por sistemas de imagem, e os indiretos são obtidos principalmente pela análise das concentrações de algumas enzimas plasmáticas, proteínas musculares, mioglobina no sangue e respostas subjetivas utilizando escalas de percepção de dor muscular (CLARKSON; HUBAL, 2002).

Devido ao baixo custo e facilidade da coleta de dados e amostras, os métodos indiretos são os mais utilizados para a análise do dano muscular. A creatina quinase (CK), lactato desidrogenase (LDH), aspartato aminotransferase (AST), entre outras, são definidas como marcadores de dano muscular, pois essas moléculas não tem a capacidade de atravessar a membrana sarcoplasmática, sendo assim, o aumento dessas enzimas no sangue indica que houve lesão na fibra muscular (FOSCHINI; PRESTES; HARRARO, 2007).

A creatina quinase (CK) é uma enzima encontrada predominantemente nos músculos e liberada na circulação durante lesões musculares, é comumente descrita como o melhor marcador indireto, especialmente após o exercício de força ou outros exercícios que exijam ações predominantemente excêntricas (FOSCHINI; PRESTES; HARRARO, 2007). É descrita sob três formas moleculares diferentes: CK-BB encontrada principalmente no cérebro; CK-MB no miocárdio e CK-MM no músculo esquelético (GONZÁLEZ; SILVA, 2006). A maioria dos dados relacionados aos níveis de CK provém de estudos com corredores de longa distância, porém, exercícios de curta duração e alta intensidade também podem induzir ao aumento dos níveis séricos dessa enzima (TOTSUKA et al., 2002).

A AST existe em muitos tecidos em duas isoformas, no citosol e na mitocôndria, sendo mais abundante no fígado, nos eritrócitos e no músculo esquelético e cardíaco. Por ser uma enzima mitocondrial e citosólica, necessita de um grau maior de lesão para ser liberada na corrente sanguínea (GONZÁLEZ; SILVA, 2006). Mas pode aumentar juntamente com a CK quando ocorrem danos musculares. Desse modo, o aumento junto com a CK, indica lesão muscular, enquanto os níveis altos de AST e CK normal indicam um provável distúrbio hepático (SOARES, 2004).

Segundo González e Silva (2006), a LDH é uma enzima presente em vários tecidos, em particular no músculo esquelético, músculo cardíaco e demonstra níveis elevados vários dias após a lesão muscular. Normalmente, a LDH aumenta menos rapidamente do que a CK, porém mantém seus valores elevados por mais tempo. É uma enzima que se apresenta como um bom indicador de lesão muscular, entretanto usa-se em conjunto com CK e AST para acompanhar a intensidade dos exercícios.

2.3 Recuperação Muscular e Síntese Proteica

Já está bem descrito na literatura que a ingestão de carboidratos é imprescindível para recuperação dos níveis de glicogênio muscular (KAVOURAS; TROUP; BERNING, 2004; BUSSAU et al., 2002; JENTJENS; JEUKENDRUP, 2003). Porém, alguns estudos trazem resultados melhores com a combinação de carboidratos e proteínas, verificando níveis ainda maiores de glicogênio (BERARDI et al., 2006; IVY et al., 2002).

Essa melhora na recuperação tem sido relacionada à disponibilidade de aminoácidos essenciais, principalmente os BCAA's (valina, leucina e isoleucina), sugerindo esses resultados à otimização da taxa de ressíntese de proteína, e também a de glicogênio após o exercício (IVY, 1998; IVY et al., 2002; TARNOPOLSKI, 1997). Neste contexto, a leucina ganha destaque por seu efeito na regulação de processos anabólicos e o que é capaz de exercer sobre os sistemas de síntese e degradação proteica muscular (GONÇALVES, 2013).

Koopman et al., (2005) realizaram um estudo para avaliar a síntese e a degradação muscular pós-treino após a ingestão de carboidratos com ou sem proteína e/ou leucina. A degradação muscular foi menor, e a síntese proteica foi maior nos grupos que consumiram a mistura de carboidrato+ proteína+ leucina (CHO+PRO+LEU) e carboidrato+ proteína (CHO+PRO). No grupo com adição de leucina, ocorreu menor oxidação proteica e os valores de insulina foram mais elevados, comparado ao grupo CHO+PRO. O balanço proteico foi negativo durante o período de recuperação do grupo CHO, mas foi positivo nos grupos CHO+PRO e CHO+PRO+LEU.

A síntese proteica envolve diversas vias metabólicas e mecanismos complexos. A leucina está ligada intimamente a esse processo, pois o aumento da concentração intracelular desse aminoácido atua como sinalizador para promover a ativação de uma proteína quinase denominada alvo da rapamicina em mamíferos (Mammalian Target of Rapamycin – mTOR).

Esta estimula a síntese proteica principalmente por meio de três proteínas regulatórias: p70S6k, 4E-BP1 e eIF4G formando um complexo para a tradução proteica. A capacidade que a mTOR tem de detectar alterações na concentração intracelular de leucina tem sido relacionada a síntese proteica induzida pela ingestão de proteínas (KIMBALL; JEFFERSON, 2006; ROGERO; TIRAPEGUI, 2008).

2.4 Consumo de Proteínas e Recuperação Muscular

As proteínas são formadas por conjuntos de aminoácidos que atuam como principal componente estrutural do músculo, produção de hormônios, enzimas, hemoglobina e outros tecidos corporais. A ingestão proteica adequada está associada ao aumento de força, aumento da taxa de síntese proteica, melhora do sistema imune e redução do risco de lesões (CRIBB et al., 2006; HOLM et al., 2008; KOOPAMAN et al., 2005; TANG; PHILLIPS, 2009).

Muitos atletas acreditam que exercícios de alta intensidade geram um requerimento maior de proteínas. Alguns estudos apoiam essa hipótese; Lemon (1998), afirmou que praticantes de exercícios de endurance, necessitam de 1,2 a 1,4 gramas de proteína por quilo de peso ao dia, enquanto que atletas de força esse valor é de 1,6 a 1,7g de PTN/kg/dia para garantir o balanço energético positivo. Além disso, exercícios de longa duração exigem uma demanda maior de energia, devido à necessidade de maior produção de ATP, e da relação direta entre a depleção de glicogênio e o desenvolvimento da fadiga durante o exercício de longa duração (NOAKES, 2000).

Fern et al, 1991, realizaram um estudo com dois grupos de indivíduos durante treino resistido por quatro semanas; um grupo foi suplementado com 2g de proteína/kg/dia, além da ingestão dietética habitual de 1,3g/kg/dia e o outro grupo recebeu um placebo composto por farelo de trigo. Foi observado em média 1,5-0,6 kg de ganho de peso no grupo placebo (ganho de massa magra). No grupo suplementado com proteína, o ganho de peso foi significativamente maior ($2,8 \pm 0,9$ kg, $p < 0,01$). Ou seja, foi observada melhora na síntese proteica e massa corporal do grupo que recebeu uma dose extra de proteína. Afirmando o conceito anterior, alguns estudos evidenciaram que após a suplementação ocorre o aumento na síntese proteica muscular em adultos (TIPTON et al., 2004; Tang et al., 2009) e idosos (BURD et al., 2012; PENNINGG et al., 2011).

Para que as proteínas sejam utilizadas, elas devem ser metabolizadas e transformadas em aminoácidos. Temos 20 aminoácidos relatados na literatura, doze deles são designados como não essenciais, pois podem ser sintetizados pelo nosso organismo e não precisam ser obtidos através da dieta. O restante não pode ser produzido e são descritos como essenciais sendo necessário seu consumo na dieta. A falta de qualquer um destes aminoácidos afeta a capacidade do tecido de crescer e ser reparado (HOFFMAN; FALVO, 2004).

A disponibilidade de aminoácidos é considerada a chave reguladora da síntese proteica (WOLFE, 2002). Sendo os aminoácidos essenciais os mais importantes nesse contexto (VOLPI et al., 2003), e entre eles, a leucina é reconhecida por exercer um papel particular na

ativação das vias de sinalização proteica e descrita pelo seu efeito sobre a degradação muscular (GARLIC, 2005; ZANCHI et al, 2009).

A leucina atua de forma efetiva no anabolismo, visto que, participa do processo de fosforilação de proteínas envolvidas no complexo de iniciação eucariótico (eIF4F) que inicia a tradução do RNA mensageiro (RNAm) e age na cascata de reações que leva a fosforilação da proteína (S6K1) a qual ativa a tradução das proteínas para síntese proteica. (HARAGUCHI et al., 2006). Age também na inibição da proteólise, que ocorre em estados catabólicos como em treinos intensos e no envelhecimento (ZANCHI et al., 2009; VIANNA et al., 2010; GLYNN et al., 2010).

Assim, esportistas em geral vêm consumindo suplementos alimentares, principalmente a base de proteínas para garantir melhor desempenho físico e recuperação muscular, sendo as proteínas do soro do leite e proteínas de soja as mais utilizadas.

2.4.1 Proteínas do soro do leite

O leite bovino possui duas frações de proteína, PSL (proteína do soro do leite) e CA (caseína). A PSL é qualificada como uma proteína “rápida” e CA como uma proteína “lenta” devido as suas taxas de digestão e absorção (BOIRIE et al., 1997), ou seja, a PSL é capaz de elevar os níveis de aminoácidos plasmáticos rapidamente após sua ingestão (LOLLO, 2007).

A proteína do soro do leite é obtida a partir da parte líquida produzida durante a fabricação do queijo, ou seja, o subproduto da coagulação da caseína do leite (MOLLEA et al., 2013). Pode ser encontrado em três formas: concentrada, isolada e hidrolisada (SOUSA et al., 2012). Possui alto valor biológico e uma cinética de absorção rápida (PENNINGGS et al., 2011).

Sua extração se dá a partir da parte líquida produzida durante a fabricação do queijo, ou seja, o subproduto da coagulação da caseína do leite (MOLLEA et al., 2013). Pode ser encontrada em três formas: concentrada, isolada e hidrolisada (SOUSA et al., 2012). O concentrado tem gordura e lactose e cerca de (29-89%) de proteínas (BOUNOUS, 2000); o isolado contém 90% proteínas (HAYES; CRIBB, 2008) e o hidrolisado é a forma semi-digerida, com aminoácidos livres (KANDA et al., 2013).

Compreende cerca de 20% da proteína total do leite bovino e é constituída principalmente por lactoglobulinas (50%), a-lactalbumina (25%), albumina do soro (7%), imunoglobulinas (5%) e contém concentrações elevadas de aminoácidos de cadeia ramificada

que, além de estarem envolvidos na síntese proteica (YOSHIZAWA, 2004), também exercem papel importante no metabolismo dos carboidratos (NISHITANI et al., 2004). Possui elevado teor de aminoácidos de cadeia ramificada (leucina, valina e isoleucina), especialmente de leucina em comparação com outras proteínas de boa qualidade (TANG; PHILLIPS, 2009).

Os BCAAs representam 21,2% dos aminoácidos que compõem as proteínas de soro de leite, ou seja, 50% do total de aminoácidos imprescindíveis nele presentes, uma propriedade que é comum a poucas outras proteínas além das proteínas do músculo esquelético (HA; ZEMEL, 2003).

Devido a sua cinética de absorção e teor mais elevado de leucina, pode-se dizer que, se a suplementação com proteínas do soro do leite fosse realizada logo após a sessão de exercícios, seria mais eficiente na iniciação do processo de síntese muscular e reparação (DANGING et al., 2001).

2.4.2 Proteína de Soja

A soja é considerada uma fonte de proteínas de alta qualidade. É de fácil digestão e bastante utilizada na produção de bebidas esportivas e fórmulas infantis (HOFFMAN; FALVO, 2004). É a única fonte de proteínas de origem vegetal que possui todos os aminoácidos essenciais, sendo considerada de alto valor biológico (PHILIPPI, 2008).

A proteína isolada de soja (PIS) é extraída a partir da farinha de soja e contém maior concentração de proteínas (Tabela 1), mas é isenta de fibras ao contrário da farinha e concentrados.

Tabela 1. Composição proteica de derivados da soja.

Formas encontradas da Proteína de Soja	Composição Proteica
Farinha de Soja	50%
Soja concentrada	70%
Soja Isolada	90%

Fonte: Adaptado de Hoffman e Falvo, (2004).

Estudos demonstraram que a ingestão da proteína de soja promove preservação, ganho de massa magra e a perda de gordura (SITES et al., 2007; NIELEN et al., 2014). Além de, aumentar o status antioxidante e reduzir níveis de creatinina no plasma em relação ao soro de leite (ROSSI et al., 2000).

Em comparação com a caseína, é uma proteína relativamente rápida, com uma cinética de absorção mais próxima do soro de leite (TIPTON et al., 2004). Porém, no geral, as fontes de proteína de base vegetal parecem apresentar digestibilidade inferior às proteínas animais (FAO, 2012). Além disso, Engelen (2007) demonstrou em seu trabalho que a suplementação de proteína de soja com BCAA (leucina, isoleucina, e valina) é necessária para melhorar o seu efeito anabólico na população idosa e clínica.

Alguns pesquisadores tem sugerido que a proteína de soja pode ser tão eficaz quanto à proteína do soro do leite no ganho de massa muscular. Kalman et al., (2007), suplementaram homens treinados com concentrado de soja, isolado de soja, proteína do soro do leite isolada e concentrada e todos apresentaram resultados no ganho de massa. Outro estudo com barras de proteína de soja ou soro do leite apresentou valores mais significativos no perfil antioxidante para a soja (BROWN et al., 2004). Esses resultados mais positivos para o soro do leite têm sido atribuídos ao seu valor mais elevado do aminoácido essencial leucina (BURD et al., 2012, TANG et al. 2009).

3 OBJETIVOS

GERAL

Avaliar o efeito da proteína isolada de soja com adição de leucina versus proteína isolada de soro de leite na concentração plasmática dos biomarcadores de dano muscular em ratos Wistar exercitados.

ESPECÍFICOS

Avaliar a potencialidade de recuperação do dano muscular com o uso da proteína isolada de soja suplementada com leucina como alternativa a proteína isolada do soro do leite;

Verificar os efeitos dos suplementos testados nos seguintes parâmetros bioquímicos: Creatina quinase total (CKnac), CKmb; AST; ALT; LDH, proteínas totais.

4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANTHONY, J.C.; YOSHIKAWA, F.; ANTHONY, T.G.; VARY, T.C.; JEFFERSON, L.S.; KIMBALL, S.R. Leucine stimulates translation initiation in skeletal muscle of postabsorptive rats via a rapamycin-sensitive pathway. **The Journal of Nutrition**, v. 130, p. 2413-2419, 2000.

AVRUCH, J.; BELHAM, C.; WENG, Q.; HARA, K.; YONEZAWA, K. The p70 S6 kinase integrates nutrient and growth signals to control translational capacity. **Progress in Molecular and Subcellular Biology**, v. 26, p. 115-154, 2001.

BAPTISTELLA, M.F. Atividade sérica das enzimas aspartato aminotransferase, creatinina e lactato desidrogenase em equinos submetidos a diferentes intensidades de exercícios. **Anuário da Produção de Iniciação Científica Discente**, v. 12, p. 33-42, 2009.

BEAUFRERE, B.; DANGIN, M.; BOIRIE, Y. The “fast” and “slow” protein concept. **Nestlé Nutrition Workshop Series Clinical and Performance Program**, v. 3, p. 121-31, 2000.

BERARDI, J.M.; PRICE, T.B.; NOREEN, E.E.; LEMON, P.W.R. Postexercise muscle glycogen recovery enhanced with a carbohydrate-protein supplement. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 38, p. 1106-1113, 2006.

BOIRIE, Y.; DANGIN, M.; GACHON, P.; VASSON, M.P.; MAUBOIS, J.L.; BEAUFRERE, B. Slow and fast dietary proteins differently modulate postprandial protein accretion. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 94, p. 14930-14935, 1997.

BOS, C.; METGES, C.C.; GAUDICHON, C.; PETZKE, K.J.; PUEYO, M.E.; MORENS, C.; EVERWARD, J.; BENAMOUZIG, R.; TOME, D. Postprandial kinetics of dietary amino acids are the main determinant of their metabolism after soy or milk protein ingestion in humans. **Journal of Nutrition**, v. 133, p. 1308-15, 2003.

BOUNOUS, G. Whey protein concentrate (WPC) and glutathione modulation in cancer treatment. **Anticancer Research**, v. 20, p. 4785-4792, 2000.

BROWN, E.C.; DISILVESTRO, R.A.; BABAKNIA, A.; DEVOR, S.T. Soy versus whey protein bars: effects on exercise training impact on lean body mass and antioxidant status. **Nutrition Journal**, v. 3, 2004.

BUCKLEY, J.D.; THOMSON, R.L.; COATES, A.M.; HOWE, P.R.C.; DENICHILO, M.O.; RONEY, M.K. Supplementation with a whey protein hydrolysate enhances recovery of muscle force-generating capacity following eccentric exercise. **Journal of Science and Medicine in Sport**, v. 13, p. 178-181, 2010.

BURD, N.A.; YANG, Y.; MOORE, D.R.; TANG, J.E.; TARNOPOLSKY, M.A.; PHILLIPS, S.M. Greater stimulation of myofibrillar protein synthesis with ingestion of whey protein

isolate v. micellar casein at rest and after resistance exercise in elderly men. **British Journal of Nutrition**, v.108, p. 958-962, 2012.

BUSSAU, V.A.; FAIRCHILD, T.J.; RAO, A.; STEELE, P.; FOURNIER, P.A. Carbohydrate loading in human muscle: an improved 1 day protocol. **European Journal of Applied Physiology**, v. 87, p. 290-295, 2002.

CASPERSEN, C.J.; MATHHEW, M.Z. Physical activity, exercise, and physical fitness: definitions and distinction for health- relates research. **Public health Reports**, v. 100, p.172-9, 1985.

CLARKSON, P.M.; HUBAL, M.J. Exercise-induced muscle damage in humans. **American journal of physical medicine & rehabilitation**, v. 81, p. S52- S69, 2002.

CRIBB, P.J.; WILLIAMS, A.D.; CAREY, M.F.; HAYES, A. The effect of whey isolate and resistance training on strength, body composition, and plasma glutamine. **International journal of sport nutrition and exercise metabolism**, v. 16, p. 494, 2006.

DANGING, M.; BOIRIE, Y.; GARCIA-RODENAS, C.; GACHON, P.; FAUQUANT, J.; CALLIER, P.; BALLÉVRE, O.; BEAUFRÈRE, B. The digestion rate of protein is an independent regulating factor of postprandial protein retention. **American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism**, v. 80, p. E340-E348, 2001.

DUARTE, J.A.; MOTA, M.P.; NEUPARTH, M.J.; APPELL, H.J.; SOARES, J.M.C. Miopatia do exercício. Anatomopatologia e fisiopatologia. **Revista Portuguesa de Ciências do Desporto**, v. 1, p. 73-80, 2001.

EGAN, B.; ZIERATH, J.R. Exercise metabolism and the molecular regulation of skeletal muscle adaptation. **Cell Metabolism**, v. 17, p. 162-84, 2013.

ENGELN, M.P.; RUTTEN, E.P.; DE CASTRO, C.L.; WOUTERS, E.F.; SCHOLS, A.M.; DEUTZ, N.E. Supplementation of soy protein with branched-chain amino acids alters protein metabolism in healthy elderly and even more in patients with chronic obstructive pulmonary disease. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 85, p. 431–439, 2007.

FAO. Report of a sub-committee of the 2011 FAO Consultation on “Protein Quality Evaluation in Human Nutrition”: the assessment of amino acid digestibility in foods for humans and including a collation of published ileal amino acid digestibility data for human foods. Rome (Italy): FAO; 2012.

FERN, E.B.; BIELINSKI, R.N.; SCHUTZ, Y. Effects of exaggerated amino acid and protein supply in man. **Experientia**, v. 47, p. 168-172, 1991.

FERNANDES, T.; SOCI U. P.; RENE C.; DO CARMO C.; GONÇALVES J.B.; DE OLIVEIRA, E. M. Determinantes moleculares da hipertrofia do músculo esquelético mediados pelo treinamento físico: estudo de vias de sinalização. 2008, **Revista Mackenzie de Educação Física e Esporte**, 7(1): 169-188; 2008.

FLECK, S.J.; KRAEMER, W.J. Fundamentos do treinamento de força muscular. Tradução: Jerri Luiz Ribeiro. **Artmed**, 376p., 2006.

FOSCHINI, D.; PRESTES, J.; CHARRO, M.A. Relação entre exercício físico, dano muscular e dor muscular de início tardio. **Revista Brasileira de Cineantropometria & Desempenho Humano**, v. 9, p. 101-106, 2007.

FRY, A.C. The role of resistance exercise intensity on muscle fibre adaptations. **Sports Medicine**, v. 34, p. 663-679, 2004.

GALLEANO, M.; CALABRO, V.; PRINCE, P.D.; LITTERIO, M.C.; PIOTRKOWSKI, B.; VAZQUEZ- PRIETO, M.A.; MIATELLO, R. M.; OTEIZA, P.I.; FRAGA, C.G. Flavonoids and metabolic syndrome. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1259, p. 87-94, 2012.

GARLICK, P.J. The role of leucine in the regulation of protein metabolism. **The Journal of Nutrition**, v. 135, p. 1553S-1556S, 2005.

GLYNN, E.L.; FRY, C.S.; DRUMMOND, M.J.; TIMMERMAN, K.L.; DHANANI, S.; VOLPI, E.; RASNUSSEN, B.B. Excess Leucine Intake Enhances Muscle Anabolic Signaling But Not Protein Anabolism in Young Men and Women. **The Journal of Nutrition**. **Gaveston**, v. 140, p. 1970-1976, 2010.

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

GONZÁLEZ, F.H.D.; SILVA, S.C. Perfil Bioquímico no Exercício. In: Introdução à Bioquímica Clínica Veterinária. **Universidade Federal do Rio Grande do Sul**, 2006.

GONZÁLEZ, F. H. D. ; SCHEFFER, J. F. S. Perfil sanguíneo: ferramenta de análise clínica, metabólica nutricional. In: Avaliação metabólico-nutricional de vacas leiteiras por meio de fluidos corporais (sangue, leite e urina). **Anais do curso realizado no 29º Congresso Nacional de Medicina Veterinária**. p. 5-17, 2002.

HA, E.; ZEMEL M. B. Functional properties of whey, whey components, and essential amino acids: Mechanisms underlying health benefits for active people (review). **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 14, p. 251-258, 2003.

HARAGUCHI, F.K.; ABREU, W.C.; PAULA, H. Proteínas do soro do leite: composição, propriedades nutricionais, aplicações no esporte e benefícios para a saúde humana. **Revista Brasileira de Nutrição**, v.19, p. 479-488, 2006.

HAYES, A.; CRIBB, P.J. Effect of whey protein isolate on strength, body composition and muscle hypertrophy during resistance training. **Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care**, v. 11, p. 40-44, 2008.

HOFFMAN, J.R.; FALVO, M.J. Protein - which is best? **Journal of Sports Science and Medicine**, v. 3, p. 118-130, 2004.

HOLM, L.; OLESEN, J. L.; MATSUMOTO, K.; DOI, T.; MIZUNO, M.; ALSTED, T.J.; MACKAY, A.L.; SCHWARZ, P.; KJAER, M. Protein-containing nutrient supplementation following strength training enhances the effect on muscle mass, strength, and bone formation in postmenopausal women. **Journal of Applied Physiology**, v. 105, p. 274-281, 2008.

IVY, J.L.; GOFORTH JR., H.W.; DAMON, B.M.; MCCAULEY, T.R.; PARSONS, E.C.; PRICE, T.B. Early postexercise muscle glycogen recovery is enhanced with a carbohydrate-protein supplement. **Journal of Applied Physiology**, v. 93, p. 1337-1344, 2002.

IVY, J.L. Glycogen resynthesis after exercise: effect of carbohydrate intake. **International Journal of Sports Medicine**, v. 19, p. 142-145, 1998.

IVY, J.L. Regulation of muscle glycogen repletion, muscle protein synthesis and repair following exercise. **Journal of Sports and Medicine**, v. 3, p. 131-138, 2004.

JENTJENS, R.; JEUKENDRUP, A.E. Determinants of postexercise glycogen synthesis during short-term recovery. **Sports Medicine**, v. 33, p. 117-144, 2003.

KALMAN, D.; FELDMAN, S.; MARTINEZ, M.; KRIEGER, D.R.; TALLON, M.J. Effect of protein source and resistance training on body composition and sex hormones. **Journal of the International Society of Sports Nutrition**, v. 4, 2007.

KANDA, A.; NAKAYAMA, K.; FUKASAWA, T.; KOGA, J.; KANEGAE, M.; KAWANAKA, K.; HIGUCHI, M. Post-exercise whey protein hydrolysate supplementation induces a greater increase in muscle protein synthesis than its constituent amino acid content. **British Journal of Nutrition**, v. 110, p. 981– 987, 2013.

KAVOURAS, S.A.; TROUP, J.P.; BERNING, J.R. The influence of low versus high carbohydrate diet on a 45-min strenuous cycling exercise. **International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism**, v. 14, p. 62-72, 2003.

KERWIN, S.M. Soy saponins and the anticancer effects of soybeans and soy-based foods. **Current Medicinal Chemistry – Anti-Cancer Agents**, v. 4, p. 263–72, 2004.

KIMBALL, S.R.; JEFFERSON, L.S. Molecular mechanisms through which amino acids mediate signaling through the mammalian target of rapamycin. **Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care**, v. 7, p. 39-44, 2006.

KOOPMAN, R.; VERDIJK, L.; MANDERS, R.J.F.; GIJSEN, A.P.; GORSELINK, M.; PIJPERS, E.; WAGENMAKERS, A.J.M.; VAN LOON, L.J.C. CoIngestion of Protein and Leucine Stimulates Muscle Protein Synthesis Rates to the Same Extent in Young and Elderly Lean Men. **American Journal Clinical Nutrition**, v. 84, p. 623-632, 2006.

KOOPMAN, R.; WANGENMAKES, A. J.M.; MANDERS, R.J.F.; ZORENC, A.H.G.; SENDEN, J.M.G.; GORSELINK, M.; KEIZER, H.A.; LOON, L.J.C. Combined Ingestion of Protein and Free Leucine with Carbohydrate Increases Postexercise Muscle Protein Synthesis in Vivo in Male Subjects. **American Journal Physiology Endocrinology and Metabolism**, v. 288, p. E645-E653, 2005.

LEMON, P.W.R. Effects of exercise on dietary protein requirements. **International Journal of Sports Nutrition**, v. 8, p. 426-47, 1998.

LOLLO, P. C. B. Influência da suplementação de proteínas do soro do leite composição corporal, desempenho físico e parâmetros bioquímicos de atletas juvenis de futebol. Tese (Doutorado). **Universidade Estadual de Campinas**, 177p., 2007.

MCARDLE, W.; KATCH, W.; KATCH, V.L. Fisiologia do Exercício. Energia, Nutrição e Desempenho Humano. 7ª Edição. **Guanabara Koogan**, 2011.

MOLLEA, C.; MARMO, L.; BOSCO, F. Valorisation of cheese whey, a by-product from the dairy industry. In book: Food industry. **InTECH Open Access Publisher**, p.549-588, 2013.

NIELEN VAN M.; FESKENS, E.J.; RIETMAN, A.; SIEBELINK, E.; MENSINK, M. Partly replacing meat protein with soy protein alters insulin resistance and blood lipids in postmenopausal women with abdominal obesity. **The Journal of Nutrition**, v. 144, p. 1423-1429, 2014.

NISHITANI, S.; IJICHI, C.; TAKEHANA, K.; FUJITANI, S.; SONAKA, I. Pharmacological activities of branched-chain amino acids: specificity of tissue and signal transduction. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 313, p. 387-389, 2004.

NOAKES, T.D. Physiological models to understand exercise fatigue and the adaptations that predict or enhance athletic performance. **Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports, Copenhagen**, v. 10, p. 123-145, 2000.

NOSAKA, K.; CLARKSON, P.M. Muscle damage following repeated bouts of high force eccentric exercise. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 27, p. 1263-1269, 1995.

PENNINGS, B.; BOIRIE, Y.; SENDEN, J.M.; GIJSEN, A.P.; KUIPERS, H.; VAN LOON, L.J. Whey protein stimulates postprandial muscle protein accretion more effectively than do casein and casein hydrolysate in older men. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 93, p. 997-1005, 2011.

PENNINGS, B.; KOOPMAN, R.; BEELLEN, M.; SENDEN, J.M.G.; SARIS, W.H.M.; VAN LOON, L.J.C.. Exercising before protein intake allows for greater use of dietary protein-derived amino acids for de novo muscle protein synthesis in both young and elderly men. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 93, p. 322-331, 2011.

PHILIPPI, S.T. Pirâmide dos alimentos: fundamentos básicos da nutrição. **Manole**, 2008.

PHILLIPS, S.M.; TANG, J.E.; MOORE, D.R. The role of milk- and soy-based protein in support of muscle protein synthesis and muscle protein accretion in young and elderly persons. **Journal of the American College of Nutrition**, v. 28, p. 343-354, 2009.

PROSKE, U.; ALLEN, T.J. Damage to skeletal muscle from eccentric exercise. **Exercise Sport Science Review**, v. 33, p. 98-104, 2005.

PROSKE, U.; MORGAN, D.L. Muscle adaptation from eccentric exercise: mechanisms, mechanical sounds, adaptation and clinical applications. **Journal of Physiology**, v. 537, p. 333-345, 2001.

PROUD, C.G. Regulation of mammalian translation factors by nutrients. **European Journal of Biochemistry**, v. 269, p. 5338-5349, 2002.

RAUGHT, B.; GINGRAS, A.C.; SONENBERG, N. The target of rapamycin (mTOR) proteins. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 98, p. 7037-7044, 2001.

ROGERO, M.M.; TIRAPEGUI, J. Aspectos Atuais sobre Aminoácidos de Cadeia Ramificada e Exercício Físico. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 44, p. 563-575, 2008.

ROSSI, A.L.; BLOSTEIN-FUJII, A.; DISILVESTRO, R.A. Soy beverage consumption by young men: increased plasma total antioxidant status and decreased acute, exercise-induced muscle damage. **Journal Nutraceuticals Functional and Medical Foods**, v. 3, p. 33-44, 2000.

SITES, C.K.; COOPER, B.C.; TOTH, M.J.; GASTALDELLI, A.; ARABSHAHI, A.; BARNES, S. Effect of a daily supplement of soy protein on body composition and insulin secretion in postmenopausal women. **Fertility and Sterility**, v. 88, p. 1609-17, 2007.

SINGH, P.; KUMAR, R.; SABAPATHY, S.N.; BAWA, A.S. Functional and Edible Uses of Soy Protein Products. **Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 7, p. 14-28, 2008.

SOARES, E. C. Indicadores hematológicos e bioquímicos na avaliação da performance de equinos atletas. **Seminário de Bioquímica do Tecido Animal**. PPGCV / UFRGS. 19p; 2004.

SOUSA, G.T.D.; LIRA, F.S.; ROSA, J.C.; DE OLIVEIRA, E.P.; OYAMA, L.M.; SANTOS, R.V; PIMENTEL, G.D. Dietary whey protein lessens several risk factors for metabolic diseases: A review. **Lipids in Health and Disease**, v. 11, 2012.

TANG, J.E.; MOORE, D.R.; KUJBIDA, G.W.; TARNOPOLSKY, M.A.; PHILLIPS, S.M. 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 Physiological**, v. 107, 987-992, 2009.

TANG, J.E.; PHILLIPS, S.M. Maximizing muscle protein anabolism: the role of protein quality. **Current Opinion Clinical Nutrition and Metabolic Care**, v. 12, p. 66-71, 2009.

TARNAPOLSKY, M.A.; BOSMAN, M.; MACDONALD, J.R.; VANDEPUTTE, D.; MARTIN, J.; ROY, B.D. Postexercise protein-carbohydrate and carbohydrate supplements increase muscle glycogen in men and women. **Journal of Applied Physiology**, v. 83, p. 1877-1883, 1997.

TIDUS, P.M. Skeletal muscle damage and repair. **Human Kinetics**, p. 1-337, 2008.

TIPTON, K.D.; WOLFE, R.R. Protein and amino acids for athletes. 2004, **Jounal of Sports Sciences**, v. 22, p. 65-79, 2004.

TOTSUKA, M. ; NAKAJI, S.; SUZUKI, K.; SUGAWARA, K.; SATO, K. Break point of serum creatine kinase release after endurance exercise. **Journal Appl Physiol**. 93:1280-1286, 2002.

TRICOLI, V. Mecanismos envolvidos na etiologia da dor muscular tardia. **Revista brasileira Ciências do movimento**, v.9, p.39-44, 2001.

VAN WESSEL, T.; DE HAAN, A.; VAN DER LAARSE, W.J.; JASPERS, R.T. The muscle fiber type-fiber size paradox: hypertrophy or oxidative metabolism? **European Journal of Applied Physiology**, v. 110, p. 665-694, 2010.

VIANNA, D.; TEODORO, G.F.R.; TORRES-LEAL, F.L.; TIRAPEGUI, J. Protein Synthesis Regulation by Leucine. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 46, p. 25-29, 2010.

VOLPI, E.; KOBAYASHI, H.; SHEFFIELD-MOORE, M.; MITTENDORFER, B.; WOLFE, R.R. Essential amino acids are primarily responsible for the amino acid stimulation of muscle protein anabolism in healthy elderly adults. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 78, p. 250–258, 2003.

WOLFE, R.R. Regulation of muscle protein by amino acids. **The Journal of Nutrition**, v. 132, p. 3219S-3224S, 2002.

YOSHIZAWA, F. Regulation of protein synthesis by branched-chain amino acids in vivo. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 313, p. 417-422, 2004.

ZANCHI, N.E.; NICASTRO, H.; LIRA, F.S.; ROSA, J.C.; COSTA, A.S.; LANCHA JUNIOR, A.H. Suplementação de Leucina: Nova Estratégia Antiatriópica. **Revista Mackenzie de Educação Física e Esporte**, v. 8, p. 113-122, 2009.

5 APÊNDICE

5.1 Artigo Científico

O artigo científico descrito neste item será submetido à revista *Revista Brasileira de Medicina do Esporte* Qualis: A2 e FI: 1806-9940, e as normas para a submissão neste periódico encontram-se disponíveis no site:< <http://rbme.org/instrucoes-aos-autores> >. Acesso em: 01 de Junho de 2017.

SUPLEMENTAÇÃO COM PROTEÍNA ISOLADA DE SOJA ATENUA DANO MUSCULAR PROVOCADO PELO EXERCÍCIO EM RATOS *WISTAR*.

Zulin*, J., Lollo, P.C.B.

Introdução: Exercícios extenuantes ou com intensidades muito elevadas podem gerar processos indesejáveis, como: lesões na estrutura muscular e elevação nos níveis de marcadores bioquímicos de dano muscular. Assim comparamos os efeitos da proteína isolada de soja com adição de leucina, e a proteína isolada do soro do leite nos principais marcadores de dano muscular pós-exercício.

Metodologia: 24 ratos Wistar foram divididos em 3 grupos: controle (WPI= proteína isolada do soro do leite), (SPI + L-leucina= proteína isolada de soja+leucina) e (SPI= proteína isolada de soja), todos realizaram um protocolo de exercício de força que simula um agachamento, e logo após receberam 2.53g/Ptn/kg de cada dieta.

Resultados: o grupo que consumiu proteína isolada de soja apresentou níveis menores de CK-nac, CK-mb e LDH comparado ao grupo que consumiu apenas proteínas do soro do leite, não diferindo significativamente ($p > 0,05$) do grupo que recebeu a proteína isolada de soja com adição de leucina. Para AST, ALT e Proteínas totais não houve diferença entre os grupos.

Conclusão: A suplementação apenas com proteína isolada de soja atenuou os níveis dos principais marcadores de dano muscular mais eficazmente do que o tratamento com adição de leucina e o tratamento com proteína isolada do soro do leite. Os resultados iniciais mostram que a proteína isolada de soja pode ser uma estratégia eficiente, mesmo com teores de leucina menores que as proteínas do soro do leite. Possivelmente esses resultados estejam ligados ao seu poder anti-inflamatório e maior tempo de aminoacidemia. No entanto são necessários mais estudos para afirmar os dados encontrados.

Palavras-chave: Suplementos esportivos. Exercício de força. Lesões musculares. Marcadores bioquímicos

Introdução

Após exercícios físicos exaustivos é possível identificar lesões no músculo esquelético. Sabe-se que certos tipos de exercícios, principalmente aqueles com maior componente excêntrico, podem causar danos as miofibrilas [29]. O grau de lesão muscular depende da duração e intensidade do exercício, pois se realizados de forma exaustiva, ambos provocam danos celulares e degeneração muscular [4].

O dano muscular provocado pelo exercício de força pode ser analisado por métodos diretos e indiretos. Os métodos indiretos são obtidos através da análise de biópsias do tecido muscular ou por sistemas de imagem, e os indiretos são obtidos principalmente pela análise das concentrações de algumas enzimas plasmáticas, proteínas musculares, mioglobina no sangue e respostas subjetivas utilizando escalas de percepção de dor muscular [3].

Devido ao baixo custo e facilidade da coleta de dados e amostras, os métodos indiretos são os mais utilizados para a análise do dano muscular. A creatina quinase (CK), lactato desidrogenase (LDH), aspartato aminotransferase (AST), entre outras, são as mais utilizadas, pois o estímulo do exercício pode causar lesão na fibra muscular, o que modifica a permeabilidade da membrana sarcoplasmática fazendo com que haja o extravasamento dessas moléculas e aumento dessas enzimas no sangue [9].

Vem crescendo o número de estudos com intuito de minimizar os danos causados pelo exercício e promover a recuperação de maneira mais eficiente. Nesse contexto, alguns autores sugerem que a suplementação proteica especialmente rica em aminoácidos essenciais como os BCAA's (aminoácidos de cadeia ramificada, leucina, valina e isoleucina), pode resultar na otimização das taxas de ressíntese proteica e reposição de glicogênio após o exercício [13, 27]. Tendo destaque à leucina por seu efeito na regulação de processos anabólicos e seu papel nos sistemas de síntese e degradação proteica muscular [11].

A leucina é um aminoácido de cadeia ramificada que tem sido objeto de muita investigação e é conhecido por aumentar as vias anabolizantes, como a via anabólica mTOR [7, 16].

As proteínas do soro de leite popularmente conhecidas como *Whey Protein* (WP), possuem em especial, maior teor de leucina em comparação com outras proteínas de alto valor biológico [26]. Também é reconhecida no meio científico sua alta velocidade de digestão e absorção, proporcionando assim um fornecimento rápido e abundante de aminoácidos e peptídeos [17].

Tratando-se de perfil de aminoácidos, a proteína de soja também pode ser considerada uma proteína de alta qualidade útil na recuperação muscular, pois é a única fonte de proteínas de origem vegetal que possui todos os aminoácidos essenciais, sendo considerada também uma proteína de alto valor biológico [20]. Em comparação com a caseína, é uma proteína relativamente rápida, com uma cinética de absorção mais próxima do soro de leite [28]. Estudos demonstraram que a ingestão da proteína de soja promove preservação, ganho de massa magra, perda de gordura [22].

Porém, no geral, as fontes de proteína de base vegetal parecem apresentar digestibilidade inferior às proteínas animais [8]. E a maioria dos estudos indica um desempenho mais significativo com uso das proteínas do soro do leite. Esses resultados mais positivos para o soro do leite têm sido atribuídos também ao seu valor mais elevado do aminoácido leucina [25].

Considerando o interesse pela redução dos danos musculares pós-exercício; o poder anabólico da leucina, da proteína do soro de leite e da proteína de soja, o objetivo deste trabalho foi, portanto, verificar os efeitos da suplementação aguda utilizando proteína isolada de soja (SPI) com leucina nas concentrações de marcadores de dano muscular em ratos *Wistar* pós-exercício.

Metodologia

Foram utilizados ratos *Wistar* recém-desmamados (21 dias de idade, $n = 24$), adquiridos no Biotério Central da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, os quais foram mantidos à temperatura ambiente ($22 \pm 2^\circ \text{C}$), em ciclo de luz de 12 h claro/12 h escuro, alimentados com ração comercial (Nuvital, Quintia, Brasil) e acesso livre a água, por 8 semanas, até atingirem um peso corporal de $316,89 \pm 18,18 \text{ g}$. Os procedimentos experimentais foram aprovados pela Comissão de Ética no uso de Animais/ CEUA da Universidade Federal do Mato Grosso do Sul/ UFMS, (Protocolo nº783 / 2016). Após atingirem o peso, os animais foram randomizados e distribuídos em 3 grupos ($n=8$). Grupos: proteína isolada soja (SPI), proteína isolada de soja com adição de leucina (SPI + LEU) e grupo proteína isolada do soro do leite (WPI).

Com o objetivo de equiparar a quantidade de leucina dos suplementos, foram acrescidos 1,6 gramas de leucina para cada 100 gramas de amostra de proteína isolada de soja computada a partir do aminograma. (Tabela 1). Para calcular a dose, foi acompanhado o ganho de peso e consumo diário dos animais, resultando em consumo aproximado de 21g de ração, que equivale a 4,62 g de proteína por dia (24h). A dose foi calculada por média de consumo diário, obtendo o valor de 0,19g de consumo de proteína por hora. Considerando o tempo de 4 horas de jejum, cada animal recebeu aproximadamente $2,56\text{g/kg} \approx 0,76\text{g}$ por animal.

Tabela 1 Composição de aminoácidos da proteína isolada do soro do leite e proteína isolada de soja

Aminoácidos em g/100g	Proteína Isolada do Soro do Leite (g)	Proteína isolada de Soja (g)
Alanina	4,6	4
Arginina	1,7	7,5
Aspartato	10	11,3
Cistina	1,9	1,3
Glutamato	16,1	18,7
Glicina	1,4	4
Histidina	1,6	2,4
Isoleucina	6,3	4,7
Leucina	9,1	7,5
Lisina	8,3	6,3
Metionina	1,9	1,3
Fenilalanina	2,6	5,2
Prolina	5,9	5,2
Serina	4,2	4,9
Treonina	7,2	3,6
Triptofano	1,7	1,4
Tirosina	2,4	3,8
Valina	5,6	4,7

Elaborado pelo autor com dados fornecidos por {ADM e Proteic Ingredients}.

Protocolo de Treinamento

O protocolo de exercício foi realizado a partir do modelo adaptado de Tamaki et al, (1992), (Figura 1). O exercício consistiu em acomodar o animal no dispositivo por meio de um colete de couro com fechamento em velcro, posicionando as patas posteriores sob a base do aparato, e em seguida, com eletrodos conectados a um aparelho de estímulo neuromotor (Neurodyn) dispostos sobre na cauda do animal, este recebia um estímulo de baixa intensidade (3 volts) com o objetivo de induzi-lo a realizar o movimento.

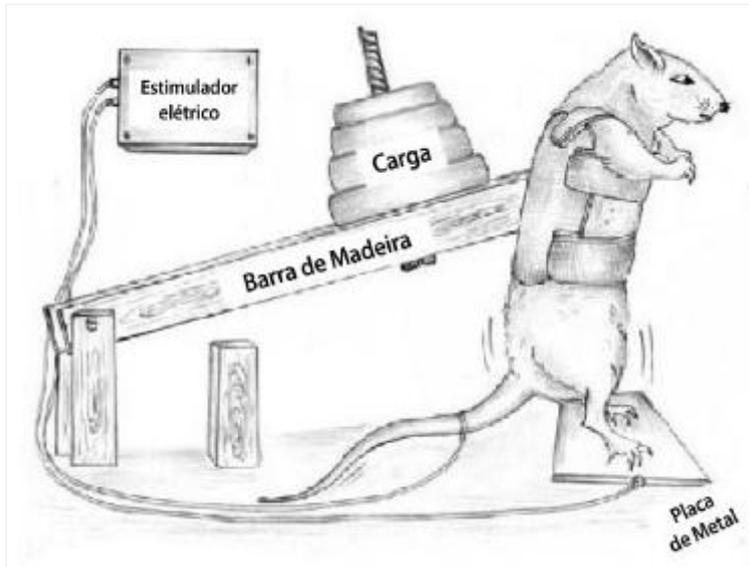


Figura 1- Aparato de treinamento de força adaptado de Tamaki et al. (1992).

O início do protocolo começou com a divisão dos animais em grupos para realizar um protocolo de adaptação ao exercício. Setenta e duas horas antes do dia do experimento, os animais foram submetidos a treinamento (sem carga); sendo 1 série de 12 repetições no primeiro dia, 2 séries no segundo dia, e 3 séries no terceiro dia, com intuito de familiarizar os ratos com o exercício e reduzir os efeitos do estresse. No dia do experimento, a ração foi retirada quatro horas antes do início dos procedimentos, com o objetivo de igualar metabolicamente os animais antes de receberem a suplementação. Após esse período os animais realizaram um conjunto de 3 séries de 12 repetições com carga de 300g [1, 8] e intervalo de 1 minuto entre as séries. Logo em seguida, receberam a suplementação por administração via oral (gavagem) de uma só vez, retornando as gaiolas por um período de 90 minutos. E imediatamente após, foi realizada a analgesia, coleta de sangue e eutanásia (figura 2).

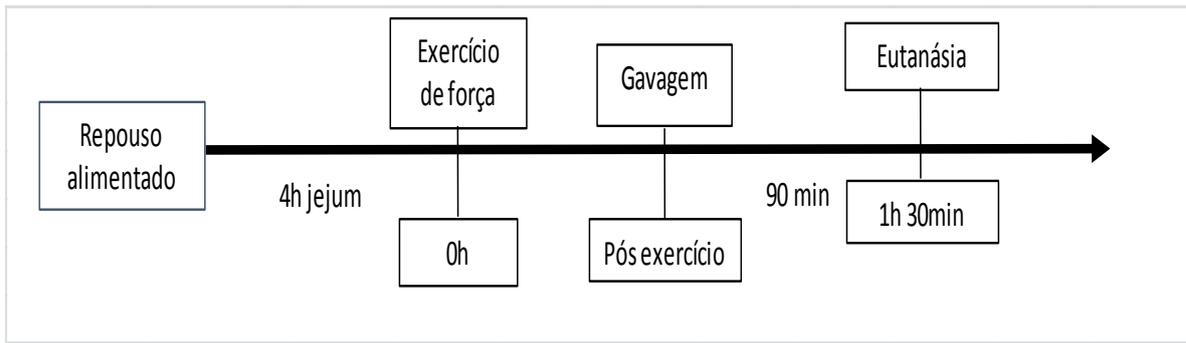


Figura 2- Desenho Experimental

Dietas Experimentais

A composição das dietas experimentais foi de aproximadamente 90% de proteína, os outros 10% consistem em vitaminas, minerais e outros nutrientes. O grupo controle recebeu proteína isolada de soro do leite (*Proteic Ingredients*), o grupo soja recebeu proteína isolada de soja (*Profam 930*) e o grupo soja+ leucina recebeu proteína isolada de soja com adição do aminoácido leucina (*Êxodo Científica*). Todas as dietas foram dissolvidas em solução salina (0,9%), que conferiu melhor solubilidade.

Análises bioquímicas

Noventa minutos após a sessão de treinamento, os animais foram anestesiados e as amostras de sangue coletadas por punção cardíaca sendo em seguida realizada a eutanásia por meio de overdose com halotano. O sangue coletado foi depositado em tubos com gel separador (*kasvi*), e centrifugado (3000 rpm x por 15 min) em centrífuga (*eppendorf*). Posteriormente, o soro foi encaminhado para análise bioquímica dos seguintes analitos: aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT), creatina quinase (CK/nac e CKmb), lactato desidrogenase (LDH) e proteínas totais. Tais análises foram realizadas utilizando-se kits bioquímicos (*Analisa*).

Análise estatística

Os testes foram realizados por meio do programa estatístico SPSS (Statistical Package for the Social Sciences), versão 23.0. Os dados foram analisados quanto à normalidade (Kolmogorov-Smirnov test) e homogeneidade. Os gráficos foram construídos utilizando o GraphPad Prism (versão 6.01). A análise de variância (Anova) foi utilizada para comparar as respostas entre os grupos e as médias foram analisadas utilizando o teste de Duncan. O valor de $P \leq 0,05$ foi estabelecido como critério de significância estatística.

Resultados e Discussão

Embora estudos evidenciem que a leucina tem papel fundamental na síntese proteica e recuperação muscular, no presente estudo, a adição deste aminoácido a SPI não demonstrou mudança significativa na redução dos marcadores de dano muscular em relação ao grupo que consumiu apenas SPI. No entanto, foi notável que, os grupos suplementados com proteína isolada de soja com ou sem adição de leucina tiveram resultados significativos ($p > 0,05$) em relação ao grupo WPI.

O *Whey Protein* isolado apresentou valores significativamente maiores nos níveis de CK-nac comparado à proteína isolada de soja. E a proteína isolada de soja com adição de leucina não diferiu significativamente dos demais tratamentos.

No caso da CK-mb, a SPI e SPI+LEU apresentaram médias similares e ambas exibiram valores significativamente menores que o observado com *Whey Protein* isolado. O mesmo ocorreu com a LDH (figura 2).

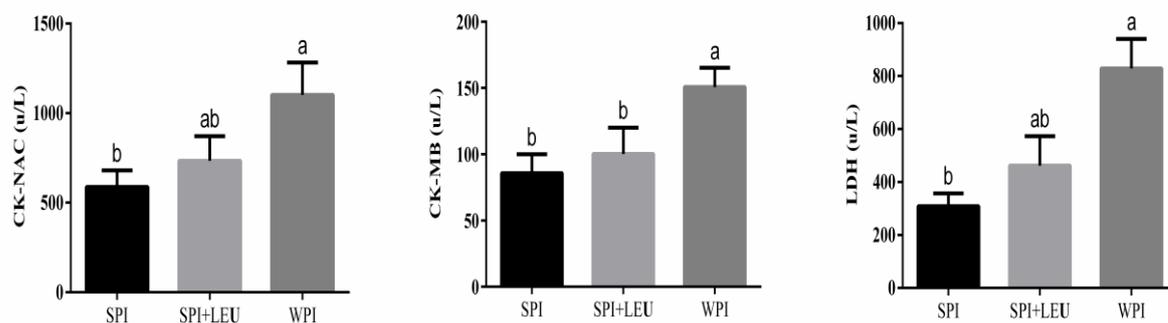


Figura 2 - Resposta da suplementação nos principais marcadores de dano muscular (CK-nac, Ck-mb e LDH). ANOVA foi realizado e analisado pelo teste post hoc de Duncan. Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os grupos. O valor de $p < 0,05$ foi adotado como critério de significância estatística. Grupos experimentais: SPI+LEU, grupo exercitado soja com adição de leucina; SPI, grupo proteína isolada de soja exercitado; WPI (*Whey Protein isolate*), Controle positivo com proteína isolada do soro do leite.

As enzimas CK (Creatina Quinase), AST (Aspartato aminotransferase) e LDH (Lactato Desidrogenase) são marcadores bioquímicos indiretos do dano muscular [23]. A CK é descrita como o principal indicador indireto de dano muscular após exercício de força, resultando em níveis séricos mais elevados principalmente em modalidades com movimentos excêntricos [9].

Esta enzima se localiza no tecido muscular, cardíaco e cerebral. A CK-MB (isoenzima MB da Creatina Quinase) ligada especificamente a dano muscular cardíaco é muito utilizada para diagnóstico de infarto do miocárdio. O fato desses parâmetros se encontrarem elevados é natural visto que o exercício de força provoca lesões levando a alterações nas membranas celulares quando comparado a níveis de repouso [30]. Mujika et al., (2004), destacam também que a duração, intensidade e o nível individual de aptidão física tem influência nos resultados, onde por exemplo, identificou que atletas de alto rendimento tendem a apresentar níveis de CK menores em decorrência do mecanismo adaptativo.

A LDH atua nas reações de liberação muscular do ácido lático que tem relação com a dor muscular sofrida horas ou dias após o exercício. Ghosh et al, (2010) demonstraram

concentrações de ácido láctico menores durante teste de esteira após a suplementação com proteína de soja, que pode indicar relação com a LDH.

Uma característica que difere estas fontes proteicas está nos processos de digestão e absorção. Enquanto o *Whey Protein* é uma proteína de rápida digestão e absorção, a soja é considerada intermediária [25]. O *Whey Protein* provoca picos rápidos e curtos de aminoácidos no sangue já a soja eleva menos os níveis, porém, de maneira mais prolongada [5]. Este fator também pode ter sido determinante nos resultados, visto que todo protocolo foi realizado buscando o melhor tempo de aminoacidemia da proteína isolada de soja [15]. Kanda et al, (2016), verificaram maior atividade de leucina e aminoacidemia no plasma 90 minutos após a administração da proteína de soja em estudo que comparou os períodos de pico desses marcadores com diferentes proteínas.

Embora todos os tratamentos sejam similares em quantidades aminoacídicas, principalmente os aminoácidos de cadeia ramificada, conhecidos como BCAAs, nota-se que a quantidade de arginina é maior na proteína de soja (ver aminograma).

Estudos indicam que após a metabolização da arginina, ocorre maior vasodilatação promovida pelo óxido nítrico, que resulta no aumento da perfusão muscular e diminuição do consumo de glicose pelos músculos esqueléticos, o que ocasiona a diminuição da fadiga muscular e induz a melhoria do desempenho físico [31]. A dose de 3g via oral de arginina em estudo com humanos demonstrou melhoria da resistência à fadiga mediante grandes esforços e aumento de força [2] e da massa muscular em indivíduos sob um programa de treinamento com pesos [31].

Outro estudo avaliou os efeitos do consumo de proteína isolada de soja (SPI) em um período crônico (quatro semanas) com exercício de força que induzia o dano muscular em homens adultos. Dhawan et al., (2016) observaram diferenças nos valores pré e pós-suplementação ($P < 0,05$) dos marcadores de inflamação (hs-cRP), creatina quinase, estresse

oxidativo, dor muscular e VO₂ máx, indicando a eficácia da proteína de soja em atenuar os danos musculares e aumentar a recuperação muscular sugerindo sua efetividade na melhoria dos efeitos negativos do exercício.

Embora esses indicadores sejam para dano muscular, acredita-se que o estresse esteja ligado a lesões musculares durante o exercício. Rossi et al., (2000) também verificaram aumento no status antioxidante e redução dos níveis de creatinina no plasma com a proteína de soja em relação ao soro de leite.

Os parâmetros de AST, ALT não diferiram significativamente nos tratamentos (figura 3).

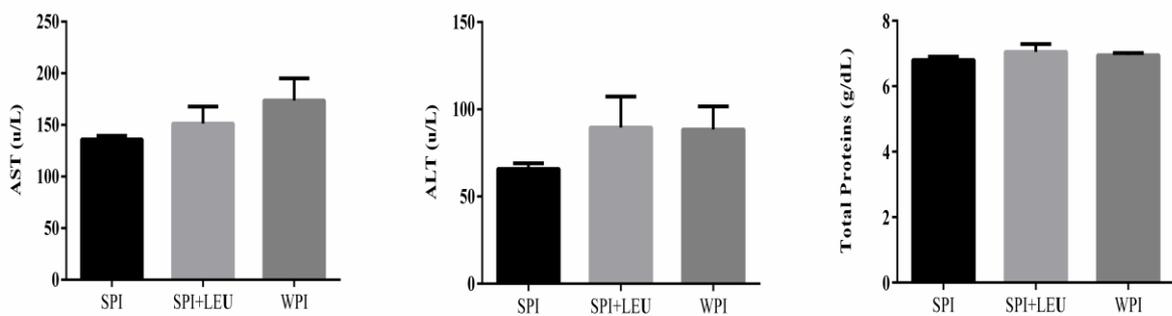


Figura 3 - Resposta da suplementação nos marcadores de dano hepático AST e ALT e degradação proteica (Proteínas totais). ANOVA foi realizado e analisado pelo teste post hoc de Duncan. O valor de $p > 0,05$ foi adotado como critério de significância estatística. Grupos experimentais: SPI+LEU, grupo exercitado soja com adição de leucina; SPI, grupo proteína isolada de soja exercitado; WPI (*Whey Protein isolate*), Controle positivo com proteína isolada do soro do leite.

AST (aspartato aminotransferase) e ALT (alanina aminotransferase) são considerados marcadores de dano hepático e muscular, sendo ALT também descrita como atuante no catabolismo de aminoácidos e no transporte de nitrogênio. Segundo González e Silva (2006), por ser uma enzima mitocondrial e citosólica, AST necessita de um grau maior de lesão para ser liberada na corrente sanguínea o que pode explicar os resultados.

Com relação às proteínas totais, não foram encontradas diferenças entre os grupos estudados e os níveis estavam dentro dos valores normais de referência, de 5,4 - 6,6 gramas por decilitro (g/dl). Da mesma forma, AST (81-180 g/dl) e ALT (36-58 g/dl) também apresentaram níveis dessas enzimas dentro dos valores de referência, significando que não houve alteração [18].

Os resultados iniciais mostram que a proteína isolada de soja pode ser uma estratégia eficiente, mesmo com teores de leucina menores que o *Whey Protein*.

Conclusão

A suplementação apenas com proteína isolada de soja atenuou os níveis dos principais marcadores de dano muscular mais eficazmente do que o tratamento com adição de leucina e o tratamento com proteína isolada do soro do leite. Quanto à adição de leucina não ter dado uma resposta significativamente diferente, é possível explicá-la levando em consideração a quantidade adicionada e a sinergia com outros aminoácidos que podem ter atuado no mecanismo de ressíntese proteica, e possivelmente esses resultados sejam influenciados pela prolongada e constante aminoacidemia demonstrada com o uso da proteína isolada de soja. No entanto, são necessários mais estudos, tanto de forma aguda como crônica para afirmar os dados encontrados.

Referências

1. Burd N, Nicholas A. et al. Low-load high volume resistance exercise stimulates muscle protein synthesis more than high-load low volume resistance exercise in young men. *Plos one*. 2010; V.5, n.8, p e12033.
2. Carlson BM, Faulkner JA. The regeneration of skeletal muscle fibers following injury: a review. *Med Sci Sports Exerc*. 1983;15(3):187–98.
3. Clarkson P. M, Hubal, M. J. Exercise-induced muscle damage in humans. *American journal of physical medicine & rehabilitation*. 2002; v. 81, n. 11, p. S52- S69.
4. Clebis, N.K, Natali, M.R.M. Lesões musculares provocadas por exercícios excêntricos. *Revista Brasileira Ciência e Movimento*. 2001; v. 9, n. 4, p. 47-53.
5. Cribb PJ, Hayes A. Effects of supplement timing and resistance exercise on skeletal muscle hypertrophy. *Medicine and science in sports and exercise*. 2006; 38(11):1918-25.
6. Dhawan M, Sandhu JS, Shenoy S. 4 Weeks of Supplementation With Isolated Soy Protein Attenuates Exercise-Induced Muscle Damage and Enhances Muscle Recovery in Well Trained Athletes: A Randomized Trial .*Asian Journal of Sports medicine*. 2016; doi: 10.5812.
7. Drumond, M.J. et al. Nutritional and contractile regulation of human skeletal muscle protein synthesis and mTORC1 signaling. *J Appl Physiol*. 2009; 106, p. 1374-1384.
8. FAO. Report of a sub-committee of the 2011 FAO Consultation on “Protein Quality Evaluation in Human Nutrition”: the assessment of amino acid digestibility in foods for humans and including a collation of published ileal amino acid digestibility data for human foods. 2012; Rome (Italy): FAO.
9. Foshini D, Prestes J, Charro M. A. Relação entre exercício físico, dano muscular e dor muscular de início tardio. *Revista Brasileira Cine antropom*. 2007; vol.9, n.1, p. 101-106.
10. Ghosh A. K, Rahaman A. A, Singh R. Combination of Sago and Soy-Protein Supplementation During Endurance Cycling Exercise and Subsequent High-Intensity Endurance Capacity. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*. 2010; 20, 216-223.
11. Gonçalves L. A. A suplementação de leucina com relação à massa muscular em humanos. *Revista Brasileira de Nutrição Esportiva*. 2013; São Paulo. v. 7. n. 40. p.212-223.
12. González, F. H. D, Scheffer, J. F. S. Perfil sanguíneo: ferramenta de análise clínica, metabólica nutricional. In: Avaliação metabólico-nutricional de vacas leiteiras por meio de fluidos corporais (sangue, leite e urina). Anais do curso realizado no 29º Congresso Nacional de Medicina Veterinária.2002; Gramado, RS. p. 5-17.

13. Ivy J. L. Glycogen resynthesis after exercise: effect of carbohydrate intake. *International Journal of Sports Medicine*, Stuttgart. 1998; v. 19, no. 2, p. 142-145.
14. Kanda A, Nakayama K, Sanbongi C, Nagata M, Ikegami S, Itoh H. Effects of whey, caseinate, or milk protein ingestion on muscle protein synthesis after exercise. *Nutrients*. 2016; 8, 339.
15. Kimball S.R, Jefferson L.S. Signaling pathways and molecular mechanisms through which branched-chain amino acids mediate translational control of protein synthesis. *J Nutr*. 2006; January 1,136:227.
16. Korhonen H.J. Bioactive components in bovine milk. In: *Bioactive Components in Milk and Dairy Products*. Park YW ed. 2009; Wiley-Blackwell, Iowa, p 15–42.
17. Melo S.F.S, et al. O papel do esteróide anabolizante sobre a hipertrofia e força muscular em treinamentos de resistência aeróbia e de força. *Revista Brasileira de Medicina do Esporte (Impresso)*. 2011; v. 17, p. 212-217.
18. Melo M.G.D, Dória G.A.A, Serafini M.R, Araújo A.A.S. Valores de referência hematológicos e bioquímicos de ratos (*Rattus norvegicus* linhagem Wistar) provenientes do biotério central da Universidade Federal de Sergipe. *Scientia Plena*. 2012; 8:1-6.
19. Mujika I. et al. Physiological changes associated with the pre-event taper in athletes. *Sports Medicine Auckland*. 2004; v. 34, no. 13, p. 891-927.
20. Philippi S.T. *Pirâmide dos alimentos: fundamentos básicos da nutrição*. Barueri: Manole. 2008.
21. Rossi A.L, Blostein-Fujii A, DiSilvestro RA. Soy beverage consumption by young men: increased plasma total antioxidant status and decreased acute, exercise-induced muscle damage. *J Nutraceut Funct Med Foods*. 2000; 3:33–44.
22. Sites C.K, et al. Effect of a daily supplement of soy protein on body composition and insulin secretion in postmenopausal women. *Fertil Steril*. 2007;88(6):1609–17.
23. Souza R. A, et al. Influência da suplementação aguda e crônica de creatina sobre marcadores enzimáticos de dano muscular de ratos sedentários e exercitados com natação. *Revista Brasileira de Educação Física e Esporte*. 2010; Vol. 24. Núm. 3. p.343-352.
24. Tamaki T, Uchiyama S, Nakano S. A weight-lifting exercise model for inducing hypertrophy in the hindlimb muscles of rats. *Medicine and Science in Sports and Exercise*. 1992; Madison, v.24, n.8, p.881-6.
25. Tang J.E, et al. Ingestion of whey hydrolysate, casein, or soy protein isolate: effects on mixed muscle protein synthesis at rest and following resistance exercise in young men. *J Appl Physiol*. 2009;107:987–92.

26. Tang J.E, Phillips SM. Maximizing muscle protein anabolism: the role of protein quality. *Current opinion in clinical nutrition and metabolic care*. 2009;12(1):66-71.
27. Tarnapolsky M.A., et al. Postexercise protein-carbohydrate and carbohydrate supplements increase muscle glycogen in men and women. *Journal of Applied Physiology*. 1997; v.83. n° 6. p.1877-1883.
28. Tipton K.D., et al. Ingestion of casein and whey proteins result in muscle anabolism after resistance exercise. *Med. Sci. Sports Exerc*. 2004;36:2073–2081.
29. Tricoli V. Mecanismos envolvidos na etiologia da dor muscular tardia. *Revista brasileira Ciências do movimento*. 2001; v.9, n.2, p.39-44.
30. Wyss M, Kaddurah-daouk R. Creatine and creatine metabolism. *Physiological Reviews*. 2000; 80: 1107-1113.
31. McConell GK, Huynh NN, Lee-Young RS, Canny BJ, Wadley GD. L-arginine infusion increases glucose clearance during prolonged exercise in humans. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2006;290(1):60–6.

6 PARECER DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA



Serviço Público Federal
Ministério da 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 "Proteína do soro do leite versus proteína isolada de soja suplementada com L-leucina: Influência no desempenho físico, parâmetros bioquímicos e composição corporal de ratos Wistar exercitados", registrada com o nº 783/2016, sob a responsabilidade de **Elisvânia Freitas dos Santos** - 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 aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS/CEUA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL/UFMS, na 7ª reunião ordinária do dia 12/08/2016.

FINALIDADE	() Ensino (x) Pesquisa Científica
Vigência da autorização	23/11/2016 a 23/12/2016
Espécie/Linhagem/Raça	<i>Rattus norvegicus</i> / Wistar
Nº de animais	24
Peso/Idade	21 dias
Sexo	Macho
Origem	Biotério Central/CCBS/UFMS

Teixeira
Maria Araújo Teixeira
Coordenadora da CEUA/UFMS
Campo Grande, 15 de agosto de 2016.

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