

UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS

**EXERCÍCIO DE FORÇA E WHEY PROTEIN DURANTE
JEJUM INTERMITENTE EM RATOS WISTAR
DESTREINADOS**

VALFREDO DE ALMEIDA SANTOS JUNIOR

**DOURADOS MS
2017**

VALFREDO DE ALMEIDA SANTOS JUNIOR

**EXERCÍCIO DE FORÇA E WHEY PROTEIN DURANTE JEJUM
INTERMITENTE EM RATOS WISTAR DESTREINADOS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal da Grande Dourados – Faculdade de Ciências da Saúde, para obtenção do Título de Mestre em Ciências da Saúde.

Orientador: Pablo Christiano Barboza Lollo

**DOURADOS MS
2017**

Agradecimentos

Agradeço a todos os professores envolvidos direta e indiretamente até o momento na minha carreira acadêmica, por me proporcionarem incentivo na busca pelo conhecimento não apenas formal, mas a busca e desenvolvimento do caráter e afetividade tão necessário na educação, por ter tirado um minuto de suas vidas e se empenhado a ensinar, meus sinceros agradecimentos.

Dentre eles, em especial meu orientador professor Pablo Christiano Barboza Lollo, pelo suporte nos períodos em que lhe foi possível, pelas suas correções e incentivos e acima de tudo pela confiança construída neste período. Não consigo expressar adequadamente minha admiração e agradecimento, mas serei eternamente grato.

Agradecimento especial para minha família pela criação que me deram, pelos valores que norteiam minhas ações acadêmicas e pessoais assim como todo suporte emocional e financeiro nos momentos de dificuldade, o amor que sinto por vocês é simplesmente incalculável.

Meus agradecimentos aos amigos adquiridos neste período, companheiros de trabalhos e irmãos na amizade que fizeram parte da minha formação e que vão continuar presentes nos trabalhos acadêmicos e na minha vida. Em especial a família adquirida durante minha estadia no LABFEX-UNIFAL, pelos incansáveis dias de trabalhos e inúmeras alegrias que me proporcionaram, república BANG-BANG/MG (In memoriam) que me adotaram como um irmão e deram todo apoio possível e ao LAFOP-UNICAMP pelas amizades, ensinamentos e apoio de sempre.

À Universidade Federal da Grande Dourados, especificamente a faculdade de ciências da saúde (FCS) pelo ambiente criativo e saudável que proporciona. Agradecimento imenso para as técnicas da FCS, sem o vosso empenho nenhum projeto poderia ser concluído. Obrigado e continuem sempre desempenhando um ótimo trabalho.

Dedicatória

Dedico este trabalho aos meus pais (*in memoriam*) pois tenho certeza que se pudessem estar presente se orgulhariam do homem e profissional que estou me tornando. Saibam que jamais os decepcionarei e carrego comigo os exemplos que me deram e a vontade de vos orgulhar como filho.

Sumário

RESUMO	6
ABSTRACT	7
1 INTRODUÇÃO.....	8
2 REVISÃO DA LITERATURA	10
2.1 Restrição calórica.....	10
2.2 Jejum intermitente.....	11
2.2.1 Jejum intermitente e síndrome metabólica	14
2.2.2 Jejum intermitente e resistência celular	15
2.2.3 Jejum intermitente e exercício físico	16
2.3 Exercício de força	18
2.4 Proteínas do Soro do leite	19
2.5 Exercício de força e proteína do soro do leite: influência na síntese proteica.....	22
3 OBJETIVOS.....	26
3.1 Objetivo geral	26
3.2 Objetivos específicos	26
4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	27
5 ANEXOS.....	39
5.1 Artigo 1: Previous whey protein consumption and strength exercise improve 4ebp1 phosphorilate expression in muscle after 12hrs intermitent fasting	40
5.2 Artigo 2: Whey Protein: suplementação e suas implicações no desempenho físico .	71

RESUMO

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30

O jejum intermitente é uma estratégia alternativa que poderia promover efeitos similares a restrição calórica linear. No entanto, ingestão inadequada de proteína e longos períodos de jejum poderiam reduzir o tecido muscular. Assim, o objetivo deste estudo foi analisar o efeito agudo do exercício de força associado ao consumo de proteína do soro do leite durante jejum intermitente (12hs) na ativação de alvos intracelulares de síntese proteica. Ratos (n=48) wistar foram divididos em 8 grupos divididos em repouso e exercitados. Os animais exercitados foram submetidos ao exercício agudo em modelo de levantamento de peso. Foi investigado o efeito do consumo concomitante de proteína do soro do leite antes de 12 horas de jejum. A expressão de 4EBP1, 4EBP1 fosforilada e proteínas de estresse térmico (HSP70 e HSP90) foram analisadas por imunoblotting. O consumo de proteínas do soro do leite e/ou exercício de força antes do período de jejum aumenta a expressão de fosfo-4EBP1 na mesma extensão no músculo sóleo e a 4EBP1 total aumentou significativamente com o consumo de proteína do soro do leite. O jejum intermitente induz um aumento de 4EBP1 fosforilada no diafragma e apresenta um efeito importante na expressão muscular de HSP70. No entanto, não houve alterações significativas na expressão de HSP90 no sóleo. A associação do consumo de proteína e exercício de força antes de 12 horas de jejum aumenta significativamente a expressão de HSP70 e HSP90 no diafragma. Concluimos que o exercício de força e o consumo de proteína do soro do leite podem aumentar a ativação de alvos intracelulares de síntese proteica durante protocolo agudo de jejum, essas adaptações a longo prazo poderiam melhorar a manutenção do tecido muscular.

Palavras-chaves: Jejum intermitente. Manutenção muscular. Síntese proteica. Exercício físico.

ABSTRACT

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21

Intermittent fasting is an alternative strategy that could promote effects similar to continuous dietary restriction. However, inadequate feed of daily protein and fasting can be linked to reduction fat-free mass. Thus, the aim of this study was analyse the acute effect of strength exercise associated with whey protein consumption during acute intermittent fasting (12hs) in intracellular targets of protein synthesis. Male wistar rats (n=48) were divided in rest and exercised in 8 groups. The exercised were submitted to acute strength exercise in a weight-lifting model. Concomintat consumption of whey protein or water control before 12 hours of intermittent fasting was investigated. The expression of 4EBP1, phospo-4EBP1 and heat shock proteins (HSP70 and HSP90) was analyzed by imunoblotting. Consumption of whey proteins and/or strength exercise before fasting period increases phospho-4EBP1 expression in the same extent in the soleus muscle and overall 4EBP1 was increased with consumption of whey protein. Fasting induces an increase of phospho-4EBP1 in the diaphragm and was an important effect on muscle HSP70 expression. However, there were no significant changes in the expression of HSP90 in the soleus. The association of protein consumption and and strength exercise before fasting period increases the expression of HSP70 and HSP90 in diaphragm. We conclude that exercise and whey protein consumption can increase the activation of intracellular targets of protein synthesis during acute fasting protocol, these long-term adaptations could improve the maintenance of muscle tissue.

Key-words: Intermittent fasting. Muscle maintenance. Protein synthesis. Physical exercise.

1 INTRODUÇÃO

O genótipo humano evoluiu de 600000 a.C. para 25000 a.C quando os humanos ainda eram caçadores. Neste contexto, as oscilações de disponibilidade de alimentos modularam genes responsáveis pelo metabolismo energético e aumento de estoque de gordura, dada a necessidade evolutiva destas adaptações (Zimmet e Thomas, 2003).

Atualmente a produção, industrialização e distribuição de alimentos em grande escala os tornam de fácil acesso e o cenário tecnológico limita a atividade física diária, um ambiente diferente do qual o genótipo humano foi adaptado. Estas condições podem ser uma das causas das epidemias de distúrbios metabólicos como obesidade, doenças crônicas entre outras (Ridker, 2002; Zimmet e Thomas, 2003; Halberg *et al.*, 2005).

Restrição calórica é umas das estratégias nutricionais mais utilizadas para perda de peso e controlar distúrbios metabólicos como obesidade e dislipidemias (Omodei e Fontana, 2011). A restrição calórica linear consiste em reduzir a ingestão energética diária em 20-50% (Omodei e Fontana, 2011). Entretanto, a restrição calórica intermitente tem sido proposta como método alternativo. A restrição calórica intermitente (jejum intermitente) também tem apresentado resultados positivos no controle de distúrbios metabólicos (Anson *et al.*, 2003). O jejum intermitente consiste em limitar a ingestão de alimentos por ciclos de períodos de jejum (Ahmet *et al.*, 2011; Cerqueira *et al.*, 2011).

Entretanto, longos períodos de jejum e ingestão inadequada de nutrientes, principalmente proteínas podem levar a uma redução da massa muscular (Andrews, MacLean e Riechman, 2006). Isto é um dos principais desafios para a perda de peso dada a influência da massa muscular no metabolismo (Atlantis *et al.*, 2009).

A manutenção da massa muscular depende do equilíbrio entre síntese proteica (SP) e degradação proteica (DP). Cascatas moleculares desempenham um papel central na regulação da síntese proteica, principalmente a alvo de rapamicina em mamíferos (do inglês *mammalian target of rapamycin*, mTOR). Fator de iniciação da tradução eucariótica 4E proteína de ligação 1 (do inglês *eukaryotic translation initiation fator 4E binding protein 1* (4EBP1), uma proteína final da cascata mTOR tem sido descrita como uma proteína representativa da ativação da cascata (Morley, Coldwell e Clemens, 2005; Proud *et al.*,

1 2007). Ativação aguda da via mTOR apresenta correlação com aumento da massa muscular
2 (Terzis *et al.*, 2008).

3 De fato, fosforilação da 4EBP1 foi significativamente menor em indivíduos
4 destreinados durante jejum (Bak *et al.*, 2016) indicando uma perda na síntese proteica.
5 Entretanto, Moro *et al.*, (2016) demonstrou que exercício de força associado ao jejum
6 intermitente pode diminuir o tecido adiposo e manter a massa muscular em indivíduos
7 treinados. Jejum intermitente não afeta o ganho de massa muscular e a performance
8 esportiva em jovens adultos (Tinsley *et al.*, 2016).

9 Exercício de força é um potente estímulo para o aumento da massa muscular
10 (Wernnborn, Augustsson e Thomee, 2007). Há um considerável corpo de evidências de
11 que a ingestão de proteínas de alta qualidade associado ao exercício de força aumente as
12 respostas adaptativas (Cermak *et al.*, 2012) em especial as proteínas do soro do leite (do
13 inglês *whey protein*, WP) (Lollo, Amaya-Farfan e Carvalho-Silva, 2011; Miller, Alexander
14 e Perez, 2014).

15 Consumo de WP influencia significativamente a síntese proteica pois são proteínas
16 com alta qualidade nutricional e uma rápida cinética de absorção, fornecendo um rápido
17 aumento de aminoácidos e peptídeos no plasma (Morato *et al.*, 2013). Uma metanálise
18 demonstrou um aumento significativo na massa muscular entre os estudos que realizaram
19 exercício de força concomitante a ingestão de WP (Miller, Alexander e Perez, 2014). Assim,
20 exercício de força e WP são estímulos para a síntese proteica e são ambos reguladores da
21 massa muscular via ativação da via mTOR.

22 Desde modo, devido a: 1) aumento de evidência do uso de jejum intermitente como
23 intervenção para perda de peso e 2) evidências de que exercício de força e consumo de WP
24 são estratégias efetivas para manutenção/aumento da massa muscular, o objetivo deste
25 estudo foi analisar o efeito agudo do exercício de força associado ao consumo de proteína
26 do soro do leite durante jejum intermitente na ativação de alvos intracelulares de síntese
27 protéica. Hipotetizamos que o exercício de força associado ao consumo de WP poderia levar
28 a mudanças intracelulares agudas favorecendo a síntese protéica durante o jejum
29 intermitente.

30
31

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Restrição calórica

Restrição calórica é uma intervenção efetiva para perda de peso (Omodei e Fontana, 2011). Modelos animais de restrição calórica têm demonstrado efeitos promissores no aumento da longevidade (Panowski *et al.*, 2007; Fontana, Partridge e Longo 2010; Longo e Mattson, 2014), redução do risco de aterosclerosis, doenças metabólicas e função cognitiva (Anson *et al.*, 2003; Duan *et al.*, 2003; Wan, Camandola e Mattson, 2003; Panowski *et al.*, 2007; Vasconcelos *et al.*, 2014).

Modelos experimentais em primatas não humanos têm demonstrado que a restrição calórica traz benefícios a saúde (Ingram *et al.*, 1990; Kemnitz *et al.*, 1993). Kemnitz *et al.* (1993) após um ano de restrição calórica de 30% diariamente demonstrou menor percentual de gordura enquanto não houve diferença significativa na massa muscular.

Há dois tipos de restrição calórica (figura 1). A restrição calórica linear pode ser definida como uma redução da ingestão calórica abaixo do *ad libitum*¹, sem desnutrição (Roth, Ingram e Lane, 2001; Bordone e Guarente, 2005) e a restrição calórica intermitente (neste trabalho descrita como jejum intermitente) que consiste em um padrão de alimentação que envolve ciclos de jejum e alimentação (Ahmet *et al.*, 2011; Cerqueira *et al.*, 2011).

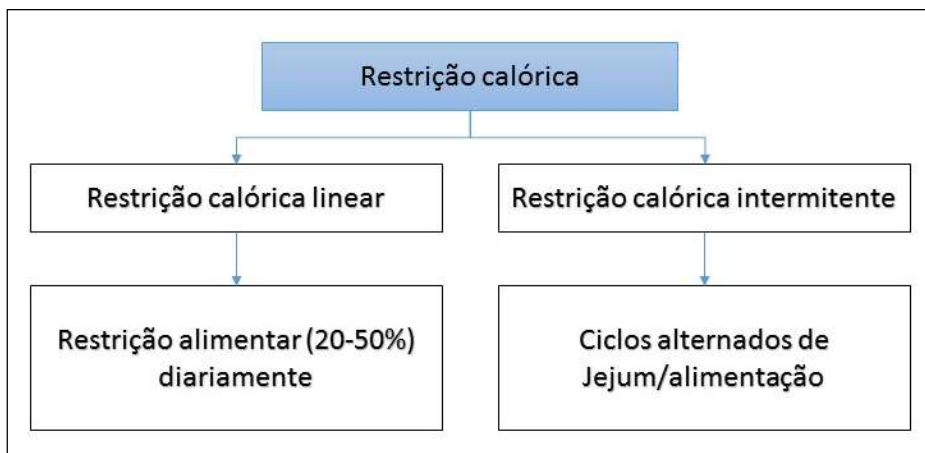
O jejum intermitente é uma alternativa promissora a restrição calórica linear por ter uma melhor aderência e resultados similares (Varady, 2011; Anastasiou *et al.*, 2015). Esses efeitos são importantes frente ao aumento epidemiológico de obesidade (Ng *et al.*, 2014). Além da perda de peso, o jejum intermitente tem demonstrado efeitos benéficos em modelos animais com câncer, doenças cardiovasculares, diabetes, doenças neurodegenerativas e longevidade (Longo e Mattson, 2014).

¹ Expressão latina que significa “à vontade”/“sem restrições”

1

2

Figura 1 - Tipos e definições de restrição calórica.



3

4

Fonte: O autor (2017)

5

6 **2.2 Jejum intermitente**

7

8 O jejum intermitente tem recebido atenção da comunidade científica devido ao fato
9 de que modelos animais e humanos tem demonstrado potencial para redução do tecido
10 adiposo (Varady, 2011), redução dos níveis de glicemia e insulina no plasma (Anson *et al.*,
11 2003) melhora do perfil lipídico (Bhutani *et al.*, 2013) entre outros. O padrão alimentar da
12 sociedade moderna (3 refeições mais lanches todos os dias) é anormal do ponto de vista
13 evolutivo e parece que a restauração do padrão “natural” (ciclos de jejum/alimentação) pode
14 ser responsável pelos benefícios descritos (Tillotson, 2004).

15 Diferente do homem moderno, o padrão alimentar da maioria dos mamíferos é
16 caracterizado por uma ingestão energética intermitente. Animais selvagens podem conseguir
17 alimentos esporadicamente (Gervasi *et al.*, 2012; Metz *et al.*, 2012) e dependem
18 exclusivamente da disponibilidade de comida (Cordain *et al.*, 2002; Strohle, Hahn e
19 Sebastian, 2010; Gervasi *et al.*, 2012). A habilidade de funcionar perfeitamente, física e
20 mentalmente, durante longos períodos de privação alimentar possui grande influência para
21 história evolutiva humana (Raichlen e Gordon, 2011).

22 Jejum intermitente em modelo experimental com camundongos submetidos a uma
23 dieta *high fat* não afetou a quantidade calórica total ingerida, mas restabeleceu o ritmo
24 circadiano normal de atividade de vias metabólicas e preveniu o ganho de peso, o acúmulo

1 de gordura, inflamação, resistência a insulina e perda de capacidade física e coordenação
2 motora (Chaix *et al.*, 2014).

3 Um interessante modelo de jejum intermitente em humanos é o Ramadan. O
4 Ramadan é um dos pilares do islamismo e ocorre no nono mês do calendário lunar islâmico.
5 Durante este período adultos saudáveis se abstêm de comer e beber durante o dia (do
6 amanhecer ao entardecer) que resulta em aproximadamente 12 horas de jejum diário por
7 aproximadamente 30 dias (Fenneni *et al.*, 2014). Entretanto a duração do jejum varia
8 consideravelmente dependendo da localização geográfica e a estação do ano, podendo variar
9 de 10 a 18 horas de jejum (Chtourou *et al.*, 2011; Burke e King, 2012; Trabelsi *et al.*, 2013;
10 Damit *et al.*, 2015).

11 Essa característica faz do Ramadan um modelo natural de estudo dos efeitos do jejum
12 intermitente em humanos. Aksungar *et al.*, (2005) verificou que durante o Ramadan,
13 indivíduos saudáveis apresentaram aumento nos níveis de HDL e diminuição da proporção
14 colesterol total/HDL, assim como melhora no perfil de coagulação sanguínea, que poderia
15 ter importantes contribuições para o risco de doenças cardiovasculares. Há também uma
16 melhora no perfil inflamatório durante o Ramadan (Aksungar *et al.*, 2007).

17 De fato, ensaios clínicos que utilizaram ciclos de jejum de 12 horas diárias
18 apresentam consistentes reduções no peso corporal (Nematy *et al.*, 2012; LeCheminant *et*
19 *al.*, 2013) o que torna este período de jejum diário relevante em estudos científicos.
20 Entretanto há diversos protocolos de jejum intermitente, os protocolos citados pelos estudos
21 desta revisão estão sumarizados na quadro 1.

22 Deste modo, o jejum intermitente tem demonstrado benefícios na redução de peso e
23 uma aderência superior a outros protocolos e poderia consistir em uma alternativa eficaz a
24 restrição calórica linear.

25
26
27
28
29
30
31

1 **Quadro 1 – Protocolos de jejum intermitente**

Tipo de jejum	Protocolo	Referências
Dia alternado de jejum	1 dia de jejum alternado por 1 dia de alimentação <i>ad libitum</i>	Sakamoto e Grunewald, 1987; Wan, Camandola e Mattson, 2003; Johnson <i>et al.</i> , 2007; Varady <i>et al.</i> , 2007; Leiper <i>et al.</i> , 2008; Varady <i>et al.</i> , 2009; Cerqueira <i>et al.</i> , 2011; Klempel e Kroeger, 2013; Buthani <i>et al.</i> , 2013; Varady <i>et al.</i> , 2013; Vasconcelos <i>et al.</i> , 2014; Gotthardt <i>et al.</i> , 2016;
Jejum a cada dois dias	20-24 horas de jejum a cada dois dias de alimentação <i>ad libitum</i>	Halberg <i>et al.</i> , 2005
5:2	2 dias de jejum durante a semana	Harvie <i>et al.</i> , 2011; Harvie <i>et al.</i> , 2013;
Ramadan	Jejum do amanhecer ao entardecer (~12-18h de jejum)	Ramadan, 2002; Gueye <i>et al.</i> , 2003; Faye <i>et al.</i> , 2004; Mesbahzadeh <i>et al.</i> , 2005; Karli <i>et al.</i> , 2007; Reilly e Waterhouse, 2007; Kirkendall <i>et al.</i> , 2008; Shirreffs <i>et al.</i> , 2008; Stannard e thompson, 2008; Zerguni <i>et al.</i> , 2008; Chaouachi <i>et al.</i> , 2008; Chaouachi <i>et al.</i> , 2009; Mujika <i>et al.</i> , 2010; Chtourou <i>et al.</i> , 2011; Ho-heng <i>et al.</i> , 2011; Memari <i>et al.</i> , 2011; Trabelsi <i>et al.</i> , 2011; Chaouachi <i>et al.</i> , 2012; Nematy <i>et al.</i> , 2012; Aloui <i>et al.</i> , 2013; Trabelsi <i>et al.</i> , 2013; Fenneni <i>et al.</i> , 2014; Damit <i>et al.</i> , 2015; Cherif <i>et al.</i> , 2016;
Alimentação com restrição de tempo	8h de acesso a alimentação	Moro <i>et al.</i> , 2016
	9h de acesso a alimentação	Chaix <i>et al.</i> , 2014
	12h de acesso a alimentação	Ferguson <i>et al.</i> , 2009; Izumida <i>et al.</i> , 2013; LeCheminant <i>et al.</i> , 2013; Chaix <i>et al.</i> , 2014

2.2.1 Jejum intermitente e síndrome metabólica

Jejum intermitente reduz tecido adiposo simultaneamente a uma maior retenção de massa muscular em modelos animais e humanos (Varady *et al.*, 2007; Gotthardt *et al.*, 2016). A proporção massa muscular/tecido adiposo é normalmente maior em animais submetidos ao jejum intermitente quando comparado a restrição calórica linear de 30-40% (Gotthardt *et al.*, 2016).

Anson *et al.* (2003) reportou que camundongos submetidos a jejum intermitente mantiveram o peso corporal similar aos animais alimentados *ad libitum*, entretanto apresentaram significativa melhora no metabolismo de glicose e mobilização de ácidos graxos, interessante essas melhoras foram superiores as observadas em animais submetidos a restrição calórica linear de 40%.

Tem sido demonstrado consistentes benefícios do jejum intermitente em relação a perda de peso, tecido adiposo, perfil lipídico e metabolismo de glicose (Tinsley e La Bounty, 2015; Seimon *et al.*, 2015).

Varady *et al.* (2013) conduziu um estudo com indivíduos com peso normal e com sobrepeso por 12 semanas, randomizado em jejum ou controle. Foi reportado significativa redução de peso ($6.5 \pm 1.0\%$) em relação ao grupo controle. Houve redução de 3.6 ± 0.7 kg no tecido adiposo sem alteração significativa na massa muscular.

Uma revisão sistemática concluiu que o jejum intermitente é um método efetivo para perda de peso (Seimon *et al.*, 2015). A perda mínima de peso foi 2.1 kg após 3 semanas e a máxima foi 16.6 kg após 20 semanas, em média a perda de peso consistiu em 3-5 kg após aproximadamente 10 semanas de jejum intermitente. Além do peso corporal, há uma diminuição do índice de massa corporal (IMC), diminuição da circunferência abdominal e tecido adiposo. Entretanto, dos 17 estudos inclusos na revisão sistemática que mensuraram a massa muscular, 8 reportaram nenhuma alteração e 9 reportaram uma diminuição (Seimon *et al.*, 2015). Portanto, estratégias que aumentem a manutenção da massa muscular durante intervenções para perda de peso são de interesse dada a importância da massa muscular no metabolismo energético (Atlantis *et al.*, 2009).

Os mecanismos pelos quais o jejum intermitente pode induzir benefícios na composição corporal e metabólicos são provavelmente complexo e envolvem inúmeras vias. Quando um indivíduo altera o padrão alimentar para jejum intermitente fisiologicamente exibe uma robusta alteração no metabolismo energético caracterizado pelo aumento da

1 sensibilidade a insulina, diminuição dos níveis de leptina e insulina, maior mobilização de
2 ácidos graxos e aumento da produção de corpos cetônicos (Johnson *et al.*, 2007; Harvie *et*
3 *al.*, 2011; Klempel *et al.*, 2013; Varady *et al.*, 2013). Modelos animais e humanos têm
4 demonstrado maior sensibilidade a insulina após jejum intermitente (Anson *et al.*, 2003;
5 Harvie *et al.*, 2011; Harvie *et al.*, 2013). Pela depleção dos estoques de glicogênio hepático
6 e muscular, o jejum aumenta as taxas de lipólise (Cahill, 2006; Izumida *et al.*, 2013).

7 Entretanto, o jejum intermitente aumenta as taxas de ácidos graxos livres circulantes
8 (Clayton *et al.*, 2016). Aumento nos níveis séricos de ácidos graxos livres desempenham um
9 papel patogênico na resistência a insulina, no desenvolvimento de doenças cardíacas e
10 doenças metabólicas como diabetes mellitus não-insulino-dependente (Salter, 2013; Perry *et*
11 *al.*, 2014; Turner *et al.*, 2014).

12 O aumento da circulação de ácidos graxos é associado a uma maior produção de
13 corpos cetônicos (Colleone *et al.*, 2002). O excesso de produção pode resultar em
14 cetoacidose metabólica (Kellum, Song e Venkataraman, 2004). Cetoacidose metabólica é
15 inversamente relacionada ao nível de função renal (Kraut e Kurtz, 2005) e função cardíaca,
16 podendo levar a arritmias graves e resistência vascular periférica (Kraut e Madias, 2010)

17 Deste modo, a gama de evidências terapêutica disponível sobre jejum intermitente
18 necessita de uma análise cautelosa sobre a sua eficiência a longo prazo e sobre as alterações
19 metabólicas adversas decorrentes da alteração do metabolismo energético.

20

21 **2.2.2 Jejum intermitente e resistência celular**

22

23 Jejum intermitente pode aumentar a resistência celular contra danos citotóxicos via
24 aumento das vias de proteção celular (Mattson, 2008). Estas vias incluem o aumento da
25 expressão de quinases e deacetilases, incluindo sirtuínas, proteínas chaperones que
26 coordenam o enovelamento, síntese, desagregação e degradação proteica (Hartl, Bracher e
27 Hayer-Hartl, 2011), aumento de enzimas antioxidantes e autofagia (Mattson, 2008).

28 Em ratos, jejum intermitente tem se mostrado efetivo em reduzir dano tecidual no
29 cérebro e coração em relação a animais alimentados *ad libitum* (Mattson, 2014) com efeito
30 neuroprotetor superior a restrição calórica linear (Anson *et al.*, 2003).

31 Paradoxalmente, é necessário a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS)
32 para a indução do sistema de proteção celular, que aumenta a expressão de sistemas
33 antioxidantes e pode minimizar os efeitos crônicos do estresse oxidativo (Ristow, 2014).

1 Anson *et al.* (2003) demonstrou que as alterações histopatológicas no cérebro induzida por
2 kainate (exotoxinas) foi minimizado em animais submetidos a jejum intermitente. Estes
3 achados foram reproduzidos em outros estudos (Wan, Camandola e Mattson, 2003).

4 O jejum intermitente possui efeito cardioprotetor (Ahmet *et al.*, 2005). Curiosamente
5 o efeito protetor é similar ao verificado após indução de proteínas de estresse térmico (do
6 inglês, *heat shock proteins* - HSPs) (Rinaldi *et al.*, 2006; Staib *et al.*, 2007). Após 3 meses
7 de jejum intermitente os animais foram submetidos a um modelo experimental de infarto do
8 miocárdio e os animais submetidos ao jejum demonstraram menor massa ventricular
9 esquerda e menores alterações teciduais em relação ao grupo controle (*ad libitum*). Os
10 autores concluíram que o jejum intermitente por si induz um pré condicionamento isquêmico
11 e pode proteger células do miocárdio contra dano isquêmico, devido ao fato de que 23 horas
12 após a cirurgia os animais em jejum demonstraram significativamente menores graus de
13 apoptose celular e infiltração de neutrófilos que o grupo controle.

14 Até o momento nenhum estudo abordou as alterações na expressão de HSPs no tecido
15 muscular decorrente do jejum intermitente. Dado o seu papel como sistema de defesa
16 molecular e ser responsivo a diversos tipos de estresses, como hipertermia (Staib *et al.*, 2007)
17 e exercício físico (Rinaldi *et al.*, 2006; Lollo *et al.*, 2013) nós hipotetizamos que o jejum
18 intermitente associado ao exercício físico poderia induzir um aumento da expressão dessas
19 proteínas no tecido muscular, entretanto estudos experimentais devem ser conduzidos para
20 confirmar esta hipótese.

22 **2.2.3 Jejum intermitente e exercício físico**

24 Jejum intermitente pode influenciar a performance física e cognitiva e tem sido um
25 desafio em estudos relacionados ao esporte (Chaouachi *et al.*, 2012; Tian *et al.*, 2011; Reilly
26 e Waterhouse, 2007). Entretanto, essa influência parece ser dependente do tipo de atividade
27 solicitada, a duração do jejum e o período do dia em que são feitas as avaliações (Trabelsi *et*
28 *al.*, 2011).

29 Ingestão de nutrientes e água próximos a atividade física tem importantes
30 implicações na performance (Aloui *et al.*, 2008). A ausência de ambos pode alterar a resposta
31 fisiológica ao exercício e ter efeitos negativos na performance esportiva (Shirreffs e
32 Maughan, 2008). De fato, jejum intermitente diminui a performance esportiva em sprints²

² Corrida de velocidade de curta distância

1 (Cherif *et al.*, 2016). Em pilotos durante o Ramadan houve redução da performance muscular
2 e tolerância ortostática (Bigard *et al.*, 1998; Boussif *et al.*, 1996). Entretanto, outros estudos
3 não observaram nenhum efeito negativo na performance esportiva durante jejum (Gueye *et*
4 *al.*, 2003; Ferguson *et al.*, 2009).

5 De acordo com o Comitê Olímpico Internacional o jejum de curta duração não possui
6 efeito negativo para saúde e performance dos atletas (Maughan *et al.*, 2012). Em atletas de
7 judô mantendo alta carga de atividade física durante jejum intermitente houve uma mínima
8 alteração nos testes máximos aeróbicos e anaeróbicos, apesar de 1,8% de redução da massa
9 corporal (Chaouachi *et al.*, 2009). Entretanto, prolongado período de jejum aumenta o risco
10 de déficit calórico, falta de nutrientes específicos assim como distúrbios eletrolíticos, estas
11 alterações podem ser prejudiciais associadas ao exercício físico (Maughan *et al.*, 2012).

12 Fisiologicamente durante o jejum o metabolismo regula os níveis de glicemia por
13 gliconeogênese hepática e renal, metabolizando lactato, gliceróis e aminoácidos (Ramadan,
14 2002; Mujika, Chaouachi e Chamari, 2010). Isso leva a um estado de maior circulação de
15 hormônios catabólicos (Ben *et al.*, 2002; Ghiravani e Mehrjoofard, 2005) e uma
16 predominância da degradação proteica (Terzis *et al.*, 2008) e possivelmente uma perda
17 progressiva de massa muscular (Bouhleb *et al.*, 2006; Bouhleb *et al.*, 2008).

18 Atletas masculinos de vários esportes perderam 0.31 kg de massa muscular e 0.11 kg
19 de tecido adiposo durante o Ramadan (Shaygan, 2011), em mulheres atletas de Taekwondo
20 a perda foi de 1.6 kg de massa corporal³ durante o período de jejum (Memari *et al.*, 2011).
21 Entretanto, Faye *et al.* (2005) e Bouhleb *et al.*, (2006) não verificaram alteração na massa
22 corporal durante jejum intermitente.

23 Atletas mantêm a ingestão calórica diária durante jejum intermitente (Chaouachi *et*
24 *al.*, 2008; Zerguini *et al.*, 2008). Atletas necessitam de uma quantidade maior de proteínas
25 quando comparados a população geral, estudos sugerem uma quantidade de 1.4 g/kg para
26 atletas de endurance e 1.6-1.8 g/kg para atletas de força (Tarnopolsky, 2004). Possivelmente
27 quando a ingestão proteica diária é adequada há manutenção da massa muscular. Stannard e
28 Thompson (2008) reportaram uma redução de 1.2 kg na massa corporal, mas nenhuma
29 alteração na massa muscular durante o Ramadan.

30 Os níveis de atividade física podem ser mantidos durante jejum intermitente (Karli
31 *et al.*, 2007; Leiper *et al.*, 2008; Chaouachi *et al.*, 2008; Kirkendall *et al.*, 2008).

³ Sem discriminação entre massa muscular e tecido adiposo

1 Interessantemente em modelos animais a combinação de jejum intermitente e exercício
2 resultou em uma maior manutenção da massa muscular do que o jejum ou exercício
3 isoladamente (Sakamoto e Grunewald, 1987).

4 Há uma maior perda de peso quando associado jejum intermitente e exercício físico
5 (Bhutani *et al.*, 2013). Adicionalmente tem sido proposto que a combinação com exercício
6 pode reduzir a hiperfagia emocional quando comparado com jejum ou exercício apenas
7 (Bhutani *et al.*, 2013). Desse modo, o exercício poderia auxiliar a perda de peso e a
8 manutenção da massa muscular durante jejum intermitente.

9

10 **2.3 Exercício de força**

11

12 O exercício de força tornou-se uma das formas mais populares para melhorar aptidão
13 física e condicionamento de atletas. O termo é utilizado para descrever um exercício onde é
14 exigido que a musculatura produza movimento (ou tente) em oposição a uma força,
15 geralmente exercida por pesos ou algum equipamento (Fleck, 2006) e tem sido descrito
16 como efetivo na melhora da composição corporal e preservação de massa muscular (Mitchell
17 *et al.*, 2013). Sendo um importante estímulo para o crescimento e modelamento muscular
18 (Bassel-Duby e Olson, 2006; Potthoff *et al.*, 2007).

19 Exercício de força é um importante estímulo para o anabolismo muscular (McGlory,
20 Devries e Phillips, 2016). O aumento da massa muscular ocorre pela estimulação da síntese
21 proteica induzida pelo exercício de força (Tang *et al.*, 2008; Wilkinson *et al.*, 2008). A
22 síntese proteica muscular aumenta dentro de 1-3h após uma sessão aguda de exercício de
23 força (Dreyer *et al.*, 2006). O efeito agudo no aumento da síntese proteica (West *et al.*, 2009;
24 Tang *et al.*, 2009; Burd *et al.*, 2010) pode durar pelo menos 48 horas (Phillips e Tipton,
25 1997) ou mais (Miller *et al.*, 2005). Desse modo, o exercício de força representa um dos
26 principais meios não farmacológicos de aumento e/ou manutenção do tecido muscular
27 (Walker *et al.*, 2011).

28 O acúmulo dos períodos de aumento da síntese proteica leva a uma sustentação do
29 balanço nitrogenado positivo (onde a síntese excede a degradação proteica) e resulta em
30 hipertrofia muscular (Burd *et al.*, 2009; Wilkinson *et al.*, 2014). Assim os acúmulos de
31 estímulos agudos são necessários para o crescimento muscular (Ahtiainen *et al.*, 2003;
32 Hulmi *et al.*, 2009).

1 O exercício de força induz alterações na expressão intracelulares de proteínas que
2 mediam a agregação proteica (Hansen *et al.*, 2005; Hawley *et al.*, 2011). Esta alteração a
3 longo prazo é responsável pela hipertrofia muscular, caracterizada por um aumento na área
4 de secção transversa das fibras musculares e volume total dos músculos (Drummond *et al.*,
5 2008; West *et al.*, 2010; Mitchell *et al.*, 2012).

6 Volume e carga influenciam a resposta do metabolismo proteico após exercício de
7 força. Em resposta a uma única sessão de exercício de força, Kulmar *et al.* (2009) demonstrou
8 um platô acima dos 60% da repetição máxima (1 repetição máxima – 1RM). Burd *et al.*
9 (2010) demonstrou que uma única sessão de alto volume e baixa intensidade (30% 1RM) foi
10 mais efetiva na amplitude e duração da síntese proteica que uma sessão de baixo volume e
11 alta intensidade (90% 1RM).

12 Esses resultados são consistentes com publicações reportando que exercício com alta
13 e baixa intensidade apresentou resultados hipertróficos similares, sugerindo que
14 levantamento de pesos exageradamente altos não são necessários para alcançar uma resposta
15 anabólica no metabolismo proteico e hipertrofia (Mitchell *et al.*, 2012).

16 Interessantemente, Kumar *et al.*, (2009) demonstrou que mesmo em jejum uma
17 sessão aguda de exercício de força aumentou as taxas de síntese proteica em homens e
18 mulheres. Entretanto não existem mais estudos que reforcem este resultado. De fato, é
19 consenso que embora o exercício de força seja um potente estímulo agudo para a síntese
20 proteica, a ausência do consumo de nutrientes o balanço nitrogenado pode se tornar negativo
21 (Kumar *et al.*, 2009). Com o fornecimento de nutrientes o balanço nitrogenado se torna
22 positivo e pode persistir por aproximadamente 48h (Miller *et al.*, 2005; Cuthbertson *et al.*,
23 2006), permitindo agregação proteica e conseqüentemente maior hipertrofia muscular
24 (Atherton e Smith, 2012).

26 **2.4 Proteínas do Soro do leite**

28 Proteínas diferem em qualidade com base no seu perfil de aminoácidos,
29 digestibilidade e biodisponibilidade (FAO/WHO Expert Consultation, 1991). As duas
30 proteínas provenientes do leite são caseína, que correspondem a aproximadamente 80% das
31 proteínas do leite e as proteínas do soro do leite (do inglês whey protein - WP)
32 correspondente aos 20% restantes. WP é encontrada no líquido remanescente da produção
33 de queijos ou pode ser especificamente isolada por um processo específico de filtração do

1 leite e é uma das proteínas mais utilizadas entre atletas e esportistas com intuito de aumentar
2 a hipertrofia muscular e melhorar a performance esportiva (Atherton e Smith, 2012).

3 Essas proteínas possuem uma alta concentração de aminoácidos essencial (45-
4 55g/100g), poucas gorduras ou carboidratos, alto valor biológico e rápida digestibilidade e
5 absorção (Pennings *et al.*, 2011) sendo uma das fontes mais ricas em aminoácidos conhecida
6 (Bucci, 2000). Adicionalmente, consumo de WP apresenta uma maior resposta na síntese
7 proteica do que a caseína tanto em repouso quanto após exercício físico (Tang *et al.*, 2009;
8 Pennings *et al.*, 2011; Burd *et al.*, 2012). Ambas proteínas apresenta um bom perfil de
9 aminoácidos (Furst e Stehle, 2004). Entretanto WP apresenta resposta a síntese proteica
10 devido a sua rápida cinética de digestão e absorção (Dangin *et al.*, 2003).

11 WP também apresenta componentes bioativos como lactoferrinas, imunoglobulinas,
12 glutamina, lactalbumina, peptídeos bioativos e um excelente perfil de aminoácidos
13 (Marshall, 2004; Morato *et al.*, 2013) o que poderia exercer efeitos fisiológicos adicionais.
14 WP possui a característica de ser solúvel em ambiente ácido e isto aumenta sua
15 digestibilidade e resulta em um rápido e pronunciado aumento de aminoácidos na corrente
16 sanguínea (Katsanos *et al.*, 2006; Dreyer *et al.*, 2008; Tang *et al.*, 2009; West *et al.*, 2011).

17 WP apresenta um alto teor do aminoácido leucina, que desempenha um papel
18 fundamental na estimulação da síntese proteica (Anthony *et al.*, 2001). De fato, leucina
19 exclusivamente aumenta os marcadores intracelulares de síntese proteica (ativação da
20 cascata mTOR, ver próxima sessão) (Atherton *et al.*, 2010). Outras fontes proteicas como
21 caseínas e proteínas de soja, embora sejam proteínas completas (que possui todos os
22 aminoácidos) apresentam menores concentrações de aminoácidos de cadeias ramificadas
23 (BCAAs) e menores concentrações de leucina (tabela 1) e ambos são necessários para
24 estimular a síntese proteica no tecido muscular (Fouillet *et al.*, 2002).

1 **Tabela 1 – Composição de aminoácidos do whey protein e caseína (g/100g de proteína).**

Aminoácido	Whey protein	Caseína
Treonina	8	3,7
Valina	6,3	5,5
Isoleucina	7,2	4,2
Leucina	11,2	8,4
Lisina	8,8	6,9
Metionina	2,2	2,6
Fenilalanina	3,1	4,3
Triptofano	1,9	1,2
Tirosina	3,2	4,8
Cisteína	2,7	0,4
Ácido aspártico ¹	11,9	6,3
Arginina	2,2	2,9
Serina	5,3	4,9
Histidina	2,1	2,2
Ácido glutâmico ²	18,9	18,8
Glicina	1,7	1,7
Alanina	5,3	2,7
Prolina	7,8	10,6

2 Fonte: adaptado de Haraguchi *et al.*, 2014. 1 – Ácido aspártico: ácido
 3 aspártico + asparagina. 2 – Ácido Glutâmico: ácido glutâmico +
 4 glutamina.
 5

6 Adição de leucina a fontes proteicas pode aumentar o efeito anabólico. Koopman *et*
 7 *al.*, (2005) demonstrou que a adição de leucina a bebidas proteicas resulta em uma maior
 8 estimulação da síntese proteica. Entretanto, embora possa estimular independentemente
 9 síntese é mais eficiente na presença de outros aminoácidos essenciais (Anthony *et al.*, 2000;
 10 Crozier *et al.*, 2005; Escobar *et al.*, 2006; Katsanos *et al.*, 2006). Somando estes fatores o

1 consumo de WP consiste em uma excelente forma nutricional de estimulação da síntese
2 proteica (Tang *et al.*, 2009; Pennings *et al.*, 2011; Burd *et al.*, 2012).

3 A ativação de marcadores intracelulares de síntese pela ingestão de WP é dose
4 dependente (Kakigi *et al.*, 2014; Areta *et al.*, 2013; D'Souza *et al.*, 2014). A ingestão destas
5 proteínas tem consistentemente demonstrado efeito na ativação de cascata mTOR, e seus
6 complementos (Anthony *et al.*, 2001)

7 Ingestão de aminoácidos em repouso estimula a síntese proteica muscular acima dos
8 valores basais (Morton *et al.*, 2015; Witard *et al.*, 2016) entretanto, Pennings *et al.* (2011)
9 demonstrou que maior resposta em músculos exercitados. Assim, a associação de exercício
10 de força e o consumo de WP possui efeito sinérgico na estimulação da síntese proteica
11 muscular.

13 **2.5 Exercício de força e proteína do soro do leite: influência na síntese proteica**

15 Recuperação muscular envolve diversos processos que auxiliam o retorno da
16 homeostase levando em consideração uma adaptação ao estresse fisiológico. No período
17 imediatamente após o exercício de força há um aumento agudo nas taxas de síntese proteica
18 para reparar o dano tecidual causado pelo exercício (Burd *et al.*, 2010). O reparo depende da
19 agregação proteica decorrente de períodos de balanço nitrogenado positivo (Hawley *et al.*,
20 2011).

21 O balanço nitrogenado pode ser entendido como o equilíbrio entre a síntese e a
22 degradação proteica, mas é primordialmente regulado pelo grau e extensão de síntese
23 (Atherton e Smith, 2012). A resposta na síntese induzida pelo exercício pode ser aumentada
24 com o fornecimento de aminoácidos (Rasmussen e Phillips, 2003; Wolf, 2006; Pennings *et*
25 *al.*, 2011). A ingestão de proteínas de alta qualidade após exercício de força aumenta a
26 síntese com simultâneo bloqueio na degradação proteica (Morton *et al.*, 2015; Witard *et al.*,
27 2016). A disponibilidade de nutrientes pós exercício serve como potente modulador das
28 adaptações morfológicas relativas ao exercício (Hawley *et al.*, 2011).

29 Um estudo duplo-cego conduzido por Cribb *et al.* (2006) verificou um significativo
30 aumento no ganho de massa muscular e força no grupo suplementado com WP comparado
31 ao grupo que recebeu suplementação equivalente com caseína. WP pode aumentar a
32 recuperação muscular e síntese proteica após exercício de força (Beck *et al.*, 2007). A
33 diferença se dá pelo pico plasmático de aminoácidos após ingestão de WP prevenindo

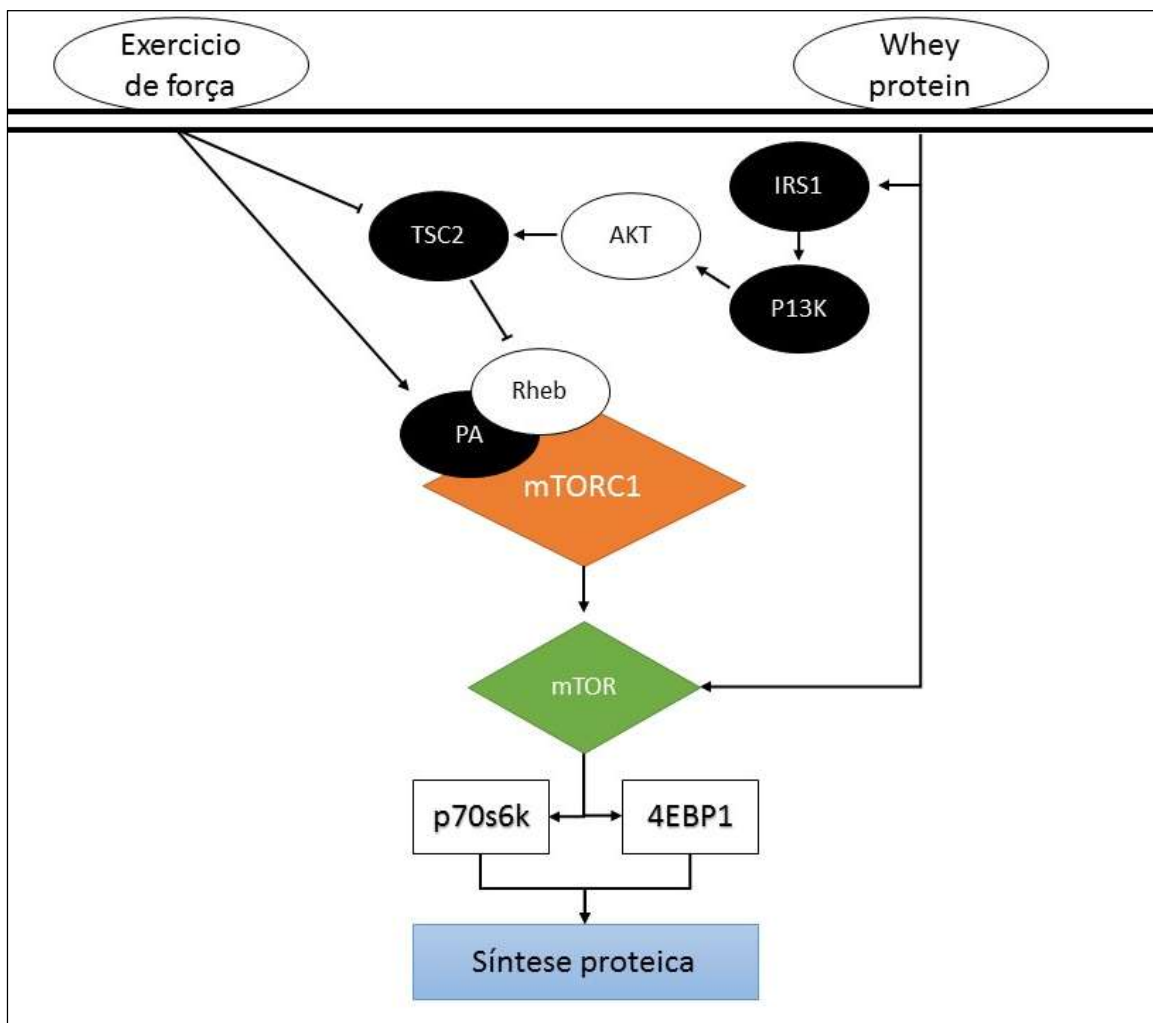
1 agudamente a degração proteica (Kerksick *et al.*, 2007). O tipo, o tempo de ingestão e a
2 quantidade de proteínas são fatores que influenciam a resposta a resposta de síntese pós
3 exercício (Witard *et al.*, 2016)

4 A via anabólica mais bem caracterizada que representa os níveis de síntese proteica
5 é a proteína intracelular denominada mecanismo alvo da rapamicina (do inglês mechanistic
6 target of rapamycin, mTOR) (Goodman, 2014). A mTOR existe em dois complexos
7 proteicos denominados mTORC1 e mTORC2, sendo a mTORC1 o principal regulador da
8 transdução proteica. Ativação da mTORC1 via mecanotransdução, fatores hormonais e
9 aminoácidos) leva a um aumento da síntese proteica pela inibição da proteína homólogo da
10 Ras enriquecido no cérebro (do inglês Ras homolog enriched in brain, Rheb) (Inoki *et al.*,
11 2003) e da ativação do glicerofosfolípido ácido fosfatídico (Sun *et al.*, 2008; Yoon *et al.*,
12 2011; You *et al.*, 2014). Aumento da ativação (fosforilação) das proteínas p70 quinase s6
13 ribossomal (p70s6k) e proteína de ligação 1 do fator de iniciação eucariótico (4EBP1) são
14 marcadores agudos da ativação da via mTOR durante o período de recuperação e
15 correlacionam-se com hipertrofia muscular (Burd *et al.*, 2010; Dreyer *et al.*, 2008; Karlsson
16 *et al.*, 2004; Koopman *et al.*, 2007).

17 A administração de rapamicina, um inibidor farmacológico da via mTOR, leva a uma
18 inibição do estímulo da síntese proteica após exercício de força, confirmando que a ativação
19 da via é necessária para as adaptações musculares decorrente do exercício (Drummond *et*
20 *al.*, 2009; Ogasawara *et al.*, 2014). Deste modo, a ativação aguda da via mTOR representa
21 um fator crítico para a síntese muscular em resposta ao exercício de força e consumo de
22 proteínas. Ativação da via mTOR leva a fosforilação de substratos da cascata como proteína
23 de ligação 1 do fator de iniciação eucariótico 4 (4EBP1), proteína quinase s6 ribossomal
24 (p70s6k) que conseqüentemente aumenta a síntese proteica muscular (Proud, 2009). Como
25 mostra a figura 2.

26

1 **Figura 2 – Visão geral da ativação da via mTOR pelo exercício de força e consumo de**
 2 **whey protein**



3
 4 Fonte: O autor (2017). AKT – proteína quinase B; IRS1 – Substrato receptor de insulina 1; mTOR –
 5 mecanismo alvo da rapamicina; mTORC1 – Complexo do mecanismo alvo da rapamicina; p70S6k
 6 – proteína p70 quinase s6 ribossomal; PA – ácido fosfatídico; PI3K – fosfatidilinositol 3-quinase;
 7 RHEB – homólogo da Ras enriquecido no cérebro; TSC2 – complexo esclerose tuberosa 2; 4EBP1
 8 – proteína de ligação 1 do fator de iniciação eucariótico 4.

9

10 Exercício de força e ingestão de whey protein possuem efeito sinérgico na ativação
 11 da via mTOR (Pennings *et al.*, 2011). O exercício de força estimula a síntese por meio de
 12 mecanotransdução, que é o processo que converte sinais mecânicos e desencadeia uma
 13 resposta intracelular por meio de “sensores” no tecido muscular (O’Neil *et al.*, 2009). Já os
 14 aminoácidos, especialmente a leucina realiza a ativação celular da via mTOR complexo
 15 P13K/AKT (fosfatidilinositol 3-quinase e proteína quinase B, respectivamente) e
 16 independente via transportadores de leucina (Norton e Layman, 2006).

1 A ativação aguda da via mTOR possui correlação com o aumento do tecido muscular
2 induzido por exercício de força (Terzis *et al.*, 2008). Adicionalmente uma metanálise
3 demonstrou que WP associado ao exercício de força pode aumentar significativamente o
4 ganho de massa muscular (Cernak *et al.*, 2012). Enquanto a capacidade anabólica da
5 disponibilidade proteica é primariamente atribuída a ingestão de aminoácidos essenciais,
6 especialmente a leucina, fatores como dose (Moore *et al.*, 2009; Witard *et al.*, 2013), fonte
7 (Reidy *et al.*, 2013) e timing de ingestão (Areta *et al.*, 2013) também modulam a resposta
8 anabólica da ingestão proteica.

9 Outros benefícios do consumo de WP são: aumento da performance esportiva
10 (Hoffman *et al.*, 2010; Josse *et al.*, 2010), melhora na recuperação (Hoffman, 2010) e
11 aumento da força muscular (Rankin *et al.*, 2004; Josse *et al.*, 2010).

12 Devido uma predominância da degradação proteica durante períodos de jejum
13 (Norton e Layman, 2006) estímulos na síntese proteica poderiam minimizar a perda de tecido
14 muscular. Deste modo, hipotetizamos que o exercício de força associado ao consumo de WP
15 antes dos períodos de jejum poderia auxiliar a manutenção do tecido muscular. Como
16 alterações agudas na via mTOR correlacionam-se com adaptações crônicas (Terzis *et al.*,
17 2008) o entendimento do comportamento intracelular agudo pode fornecer informações
18 importantes sobre o metabolismo proteico no tecido muscular quando associado exercício
19 de força e consumo de whey protein e jejum intermitente.

20

21

22

23

24

25

26

27

28

29

3 OBJETIVOS

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21

3.1 Objetivo geral

Verificar quais são as alterações celulares agudas decorrentes do exercício de força e o consumo de proteínas do soro do leite associado ao jejum intermitente

3.2 Objetivos específicos

Em situação de jejum intermitente, após exercício de força e consumo de proteínas do soro do leite, quantificar:

- a) Marcadores intracelulares de síntese proteica (expressão de 4EBP1 e 4EBP1 fosforilada como marcadores da ativação da via mTOR)
- b) Marcadores de dano muscular (CK e LDH)
- c) Marcadores de estresse celular no tecido muscular (expressão de heat shock protein 70 e 90 kda)

4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1
2
3
4
5 AHMET, Ismayil et al. Cardioprotection by intermittent fasting in rats. **Circulation**, v.
6 112, n. 20, p. 3115-3121, 2005.
7
8 AHMET, Ismayil et al. Effects of calorie restriction on cardioprotection and cardiovascular
9 health. **Journal of molecular and cellular cardiology**, v. 51, n. 2, p. 263-271, 2011.
10
11 AHTIAINEN, Juha P. et al. Muscle hypertrophy, hormonal adaptations and strength
12 development during strength training in strength-trained and untrained men. **European**
13 **journal of applied physiology**, v. 89, n. 6, p. 555-563, 2003.
14
15 AKSUNGAR, Fehime B. et al. Effects of intermittent fasting on serum lipid levels,
16 coagulation status and plasma homocysteine levels. **Annals of nutrition and metabolism**,
17 v. 49, n. 2, p. 77-82, 2005.
18
19 AKSUNGAR, Fehime B.; TOPKAYA, Aynur E.; AKYILDIZ, Mahmut. Interleukin-6, C-
20 reactive protein and biochemical parameters during prolonged intermittent fasting. **Annals**
21 **of Nutrition and Metabolism**, v. 51, n. 1, p. 88-95, 2007.
22
23 ALOUI, Asma et al. Effects of Ramadan on the diurnal variations of repeated sprints
24 performances. **Int J Sports Physiol Perform**, v. 8, n. 3, p. 254-62, 2013.
25
26 ANSON, R. Michael et al. Intermittent fasting dissociates beneficial effects of dietary
27 restriction on glucose metabolism and neuronal resistance to injury from calorie
28 intake. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 100, n. 10, p. 6216-6220,
29 2003.
30
31 ARETA, José L. et al. Reduced resting skeletal muscle protein synthesis is rescued by
32 resistance exercise and protein ingestion following short-term energy deficit. **American**
33 **Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, v. 306, n. 8, p. E989-E997,
34 2014.
35
36 ATHERTON, P. J.; SMITH, K. Muscle protein synthesis in response to nutrition and
37 exercise. **The Journal of physiology**, v. 590, n. 5, p. 1049-1057, 2012.
38
39 ATHERTON, Philip J. et al. Distinct anabolic signalling responses to amino acids in
40 C2C12 skeletal muscle cells. **Amino acids**, v. 38, n. 5, p. 1533-1539, 2010.
41
42 BASSEL-DUBY, Rhonda; OLSON, Eric N. Signaling pathways in skeletal muscle
43 remodeling. **Annu. Rev. Biochem.**, v. 75, p. 19-37, 2006.
44
45 BECK, Travis W. et al. Effects of a drink containing creatine, amino acids, and protein
46 combined with ten weeks of resistance training on body composition, strength, and
47 anaerobic performance. **The Journal of Strength & Conditioning Research**, v. 21, n. 1,
48 p. 100-104, 2007.

1
2 BEN, Salem L. et al. [Circadian rhythm of cortisol and its responsiveness to ACTH during
3 Ramadan]. In: **Annales d'endocrinologie**. 2002. p. 497-501.
4
5 BHUTANI, Surabhi et al. Alternate day fasting and endurance exercise combine to reduce
6 body weight and favorably alter plasma lipids in obese humans. **Obesity**, v. 21, n. 7, p.
7 1370-1379, 2013.
8
9 BHUTANI, Surabhi et al. Effect of exercising while fasting on eating behaviors and food
10 intake. **Journal of the International Society of Sports Nutrition**, v. 10, n. 1, p. 1, 2013.
11
12 BIGARD, A. X. et al. Alterations in muscular performance and orthostatic tolerance during
13 Ramadan. **Aviation, space, and environmental medicine**, v. 69, n. 4, p. 341-346, 1998.
14
15 BORDONE, Laura; GUARENTE, Leonard. Calorie restriction, SIRT1 and metabolism:
16 understanding longevity. **Nature reviews Molecular cell biology**, v. 6, n. 4, p. 298-305,
17 2005.
18
19 BOUHLEL, E. et al. Effect of Ramadan fasting on fuel oxidation during exercise in trained
20 male rugby players. **Diabetes & metabolism**, v. 32, n. 6, p. 617-624, 2006.
21
22 BOUHLEL, E. et al. Effects of Ramadan fasting on plasma leptin and adiponectin
23 concentrations, biochemical parameters and body composition in trained young men. **Int J**
24 **Sport Nutr Metab**, v. 18, p. 617-27, 2008.
25
26 BOUHLEL, Ezzedine et al. Ramadan fasting and the GH/IGF-1 axis of trained men during
27 submaximal exercise. **Annals of nutrition and metabolism**, v. 52, n. 4, p. 261-266, 2008.
28
29 BOUSSIF, M. et al. Effets du Ramadan sur les performances physiques de pilotes d'avions
30 de combat. **Médecine aéronautique et spatiale**, v. 35, n. 139, p. 166-174, 1996.
31
32 BUCCI L, UNLU L. Proteins and amino acid supplements in exercise and sport. In:
33 **Driskell J, Wolinsky I, editors. Energy-yielding macronutrients and energy**
34 **metabolism in sports nutrition**. Boca Raton: CRC Press; 2000. pp. 191– 212.
35
36 BURD, Nicholas A. et al. Exercise training and protein metabolism: influences of
37 contraction, protein intake, and sex-based differences. **Journal of Applied Physiology**, v.
38 106, n. 5, p. 1692-1701, 2009.
39
40 BURD, Nicholas A. et al. Low-load high volume resistance exercise stimulates muscle
41 protein synthesis more than high-load low volume resistance exercise in young men. **PloS**
42 **one**, v. 5, n. 8, p. e12033, 2010.
43
44 BURKE, Louise M.; KING, Christine. Ramadan fasting and the goals of sports nutrition
45 around exercise. **Journal of sports sciences**, v. 30, n. sup1, p. S21-S31, 2012.
46
47 CAHILL JR, George F. Fuel metabolism in starvation. **Annu. Rev. Nutr.**, v. 26, p. 1-22,
48 2006.
49

- 1 CERMAK, Naomi M. et al. Protein supplementation augments the adaptive response of
2 skeletal muscle to resistance-type exercise training: a meta-analysis. **The American**
3 **journal of clinical nutrition**, v. 96, n. 6, p. 1454-1464, 2012.
- 4
- 5 CERQUEIRA, Fernanda M. et al. Long-term intermittent feeding, but not caloric
6 restriction, leads to redox imbalance, insulin receptor nitration, and glucose intolerance.
7 **Free Radical Biology and Medicine**, v. 51, n. 7, p. 1454-1460, 2011.
- 8
- 9 CHAIX, Amandine et al. Time-restricted feeding is a preventative and therapeutic
10 intervention against diverse nutritional challenges. **Cell metabolism**, v. 20, n. 6, p. 991-
11 1005, 2014.
- 12
- 13 CHAOUACHI, A. et al. Lipid profiles of judo athletes during Ramadan. **International**
14 **journal of sports medicine**, v. 29, n. 04, p. 282-288, 2008.
- 15
- 16 CHAOUACHI, Anis et al. Effect of Ramadan intermittent fasting on aerobic and anaerobic
17 performance and perception of fatigue in male elite judo athletes. **The Journal of**
18 **Strength & Conditioning Research**, v. 23, n. 9, p. 2702-2709, 2009.
- 19
- 20 CHAOUACHI, Anis et al. The effects of Ramadan intermittent fasting on athletic
21 performance: Recommendations for the maintenance of physical fitness. **Journal of sports**
22 **sciences**, v. 30, n. sup1, p. S53-S73, 2012.
- 23
- 24 CHERIF, Anissa et al. Three days of intermittent fasting: repeated-sprint performance
25 decreased by vertical stiffness impairment. **International journal of sports physiology**
26 **and performance**, p. 1-26, 2016.
- 27
- 28 CHTOUROU, Hamdi et al. The effect of Ramadan fasting on physical performances,
29 mood state and perceived exertion in young footballers. **Asian Journal of Sports**
30 **Medicine**, v. 2, n. 3, p. 177, 2011.
- 31
- 32 CLAYTON, David J. et al. Effect of 24-h severe energy restriction on appetite regulation
33 and ad libitum energy intake in lean men and women. **The American Journal of Clinical**
34 **Nutrition**, v. 104, n. 6, p. 1545-1553, 2016.
- 35
- 36 COLLEONE, V. V. et al. Aplicações clínicas dos ácidos graxos de cadeia
37 média. **Entendendo a gordura: os ácidos graxos. São Paulo: Manole**, p. 439-54, 2002.
- 38
- 39 CORDAIN, L. et al. Original Communications-The paradoxical nature of hunter-gatherer
40 diets: Meat-based, yet non-atherogenic. **European journal of clinical nutrition**, v. 56, n.
41 1, p. S42, 2002.
- 42
- 43 CRIBB, Paul J. et al. The effect of whey isolate and resistance training on strength, body
44 composition, and plasma glutamine. **International journal of sport nutrition and**
45 **exercise metabolism**, v. 16, n. 5, p. 494, 2006.
- 46
- 47 CUTHBERTSON, Daniel J. et al. Anabolic signaling and protein synthesis in human
48 skeletal muscle after dynamic shortening or lengthening exercise. **American Journal of**
49 **Physiology-Endocrinology and Metabolism**, v. 290, n. 4, p. E731-E738, 2006.

1
2 DAMIT, Nurhayatul Filzah et al. Exercise responses and training during daytime fasting in
3 the month of Ramadan and its impact on training-induced adaptations. In book: **Effects of**
4 **Ramadan fasting on health and athletic performance**. California, USA, 2015.
5
6 DANGIN, Martial et al. Influence of the protein digestion rate on protein turnover in
7 young and elderly subjects. **The Journal of nutrition**, v. 132, n. 10, p. 3228S-3233S,
8 2002.
9
10 DANGIN, Martial et al. The rate of protein digestion affects protein gain differently during
11 aging in humans. **The Journal of physiology**, v. 549, n. 2, p. 635-644, 2003.
12
13 DICKINSON, Jared M. et al. Mammalian target of rapamycin complex 1 activation is
14 required for the stimulation of human skeletal muscle protein synthesis by essential amino
15 acids. **The Journal of nutrition**, v. 141, n. 5, p. 856-862, 2011.
16
17 DREYER, Hans C. et al. Resistance exercise increases AMPK activity and reduces 4E-
18 BP1 phosphorylation and protein synthesis in human skeletal muscle. **The Journal of**
19 **physiology**, v. 576, n. 2, p. 613-624, 2006.
20
21 DRUMMOND, Micah J. et al. Rapamycin administration in humans blocks the
22 contraction-induced increase in skeletal muscle protein synthesis. **The Journal of**
23 **physiology**, v. 587, n. 7, p. 1535-1546, 2009.
24
25 DRUMMOND, Micah J. et al. Skeletal muscle protein anabolic response to resistance
26 exercise and essential amino acids is delayed with aging. **Journal of applied physiology**,
27 v. 104, n. 5, p. 1452-1461, 2008. \
28
29 D'SOUZA, Randall F. et al. Dose-dependent increases in p70S6K phosphorylation and
30 intramuscular branched-chain amino acids in older men following resistance exercise and
31 protein intake. **Physiological reports**, v. 2, n. 8, p. e12112, 2014.
32
33 DUAN, Wenzhen et al. Reversal of behavioral and metabolic abnormalities, and insulin
34 resistance syndrome, by dietary restriction in mice deficient in brain-derived neurotrophic
35 factor. **Endocrinology**, v. 144, n. 6, p. 2446-2453, 2003.
36
37 FAO/WHO Expert Consultation. 1991. Protein quality evaluation report of the joint
38 FAO/WHO Expert Consultation held in Bethesda, Md, USA, in 1989. FAO Food and
39 Nutrition Paper 51, Rome.
40
41 FAYE, J. et al. [Effects of Ramadan fast on weight, performance and glycemia during
42 training for resistance]. **Dakar medical**, v. 50, n. 3, p. 146-151, 2004.
43
44 FENNENI, Mohamed A. et al. Effects of Ramadan on physical capacities of North African
45 boys fasting for the first time. **Libyan Journal of Medicine**, v. 9, n. 1, 2014.
46
47 FERGUSON, Lisa M. et al. Effects of caloric restriction and overnight fasting on cycling
48 endurance performance. **The Journal of Strength & Conditioning Research**, v. 23, n. 2,
49 p. 560-570, 2009.

1
2 FLECK, Steven J. **Fundamentos do treinamento de força muscular** / Steven J. Fleck,
3 William J. Kraemer; tradução Jerri Luiz Ribeiro. – 3d. – Porto Alegre: Artmed, 2006.
4 376p. : il. 28 cm.
5
6 FONTANA, Luigi; PARTRIDGE, Linda; LONGO, Valter D. Extending healthy life
7 span—from yeast to humans. **science**, v. 328, n. 5976, p. 321-326, 2010.
8
9 FÜRST, Peter; STEHLE, Peter. What are the essential elements needed for the
10 determination of amino acid requirements in humans?. **The Journal of nutrition**, v. 134,
11 n. 6, p. 1558S-1565S, 2004.
12
13 GERVASI, Vincenzo et al. Predicting the potential demographic impact of predators on
14 their prey: a comparative analysis of two carnivore–ungulate systems in
15 Scandinavia. **Journal of Animal Ecology**, v. 81, n. 2, p. 443-454, 2012.
16
17 GOODMAN, Craig A. The role of mTORC1 in regulating protein synthesis and skeletal
18 muscle mass in response to various mechanical stimuli. In: **Reviews of Physiology,**
19 **Biochemistry and Pharmacology 166**. Springer International Publishing, 2013. p. 43-95.
20
21 GOTTHARDT, Juliet D. et al. Intermittent Fasting Promotes Fat Loss with Lean Mass
22 Retention, Increased Hypothalamic Norepinephrine Content, and Increased Neuropeptide
23 Y Gene Expression in Diet-Induced Obese Male Mice. **Endocrinology**, v. 157, n. 2, p.
24 679-691, 2016.
25
26 GUEYE, L. et al. Physiological adaptations to exercise during a short-term fasting. **Scr**
27 **Med (Brno)**, v. 76, p. 291-6, 2003.
28
29 HALBERG, Nils et al. Effect of intermittent fasting and refeeding on insulin action in
30 healthy men. **Journal of Applied Physiology**, v. 99, n. 6, p. 2128-2136, 2005.
31
32 HANSEN, Anne K. et al. Skeletal muscle adaptation: training twice every second day vs.
33 training once daily. **Journal of Applied Physiology**, v. 98, n. 1, p. 93-99, 2005.
34
35 HARAGUCHI, Fabiano Kenji et al. Whey protein modifies gene expression related to
36 protein metabolism affecting muscle weight in resistance-exercised rats. **Nutrition**, v. 30,
37 n. 7, p. 876-881, 2014.
38
39 HARTL, F. Ulrich; BRACHER, Andreas; HAYER-HARTL, Manajit. Molecular
40 chaperones in protein folding and proteostasis. **Nature**, v. 475, n. 7356, p. 324-332, 2011.
41
42 HARTMAN, Joseph W. et al. Consumption of fat-free fluid milk after resistance exercise
43 promotes greater lean mass accretion than does consumption of soy or carbohydrate in
44 young, novice, male weightlifters. **The American journal of clinical nutrition**, v. 86, n.
45 2, p. 373-381, 2007.
46
47 HARVIE, Michelle et al. The effect of intermittent energy and carbohydrate restriction v.
48 daily energy restriction on weight loss and metabolic disease risk markers in overweight
49 women. **British Journal of Nutrition**, v. 110, n. 08, p. 1534-1547, 2013.

1
2 HARVIE, Michelle N. et al. The effects of intermittent or continuous energy restriction on
3 weight loss and metabolic disease risk markers: a randomized trial in young overweight
4 women. **International journal of obesity**, v. 35, n. 5, p. 714-727, 2011.
5
6 HAWLEY, John A. et al. Nutritional modulation of training-induced skeletal muscle
7 adaptations. **Journal of Applied Physiology**, v. 110, n. 3, p. 834-845, 2011.
8
9 HIETANIEMI, Mirella et al. The effect of a short-term hypocaloric diet on liver gene
10 expression and metabolic risk factors in obese women. **Nutrition, Metabolism and**
11 **Cardiovascular Diseases**, v. 19, n. 3, p. 177-183, 2009.
12
13 HOFFMAN, Jay R. et al. Effect of a proprietary protein supplement on recovery indices
14 following resistance exercise in strength/power athletes. **Amino acids**, v. 38, n. 3, p. 771-
15 778, 2010.
16
17 HO-HENG, Tian et al. Effects of fasting during Ramadan month on cognitive function in
18 Muslim athletes. **Asian journal of sports medicine**, v. 2, n. 3, p. 145, 2011.
19
20 HULMI, Juha J. et al. Resistance exercise with whey protein ingestion affects mTOR
21 signaling pathway and myostatin in men. **Journal of Applied Physiology**, v. 106, n. 5, p.
22 1720-1729, 2009.
23
24 INGRAM, Donald K. et al. Dietary restriction and aging: the initiation of a primate
25 study. **Journal of gerontology**, v. 45, n. 5, p. B148-B163, 1990.
26
27 INOKI, Ken et al. Rheb GTPase is a direct target of TSC2 GAP activity and regulates
28 mTOR signaling. **Genes & development**, v. 17, n. 15, p. 1829-1834, 2003a.
29
30 INOKI, Ken; ZHU, Tianqing; GUAN, Kun-Liang. TSC2 mediates cellular energy response
31 to control cell growth and survival. **Cell**, v. 115, n. 5, p. 577-590, 2003b.
32
33 IZUMIDA, Yoshihiko et al. Glycogen shortage during fasting triggers liver-brain-adipose
34 neurocircuitry to facilitate fat utilization. **Nature communications**, v. 4, 2013.
35
36 JOHNSON, James B. et al. Alternate day calorie restriction improves clinical findings and
37 reduces markers of oxidative stress and inflammation in overweight adults with moderate
38 asthma. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 42, n. 5, p. 665-674, 2007.
39
40 JOHNSTONE, A. Fasting for weight loss: an effective strategy or latest dieting
41 trend&quest. **International Journal of Obesity**, v. 39, n. 5, p. 727-733, 2015.
42
43 JOSSE, Andrea R. et al. Body composition and strength changes in women with milk and
44 resistance exercise. **Med Sci Sports Exerc**, v. 42, n. 6, p. 1122-1130, 2010.
45
46 KAKIGI, Ryo et al. Whey protein intake after resistance exercise activates mTOR
47 signaling in a dose-dependent manner in human skeletal muscle. **European journal of**
48 **applied physiology**, v. 114, n. 4, p. 735-742, 2014.
49

1 KARLI, Umid et al. Influence of Ramadan fasting on anaerobic performance and recovery
2 following short time high intensity exercise. **J Sports Sci Med**, v. 6, n. 4, p. 490-7, 2007.
3

4 KELLUM, John A.; SONG, Mingchen; VENKATARAMAN, Ramesh. Effects of
5 hyperchloremic acidosis on arterial pressure and circulating inflammatory molecules in
6 experimental sepsis. **CHEST Journal**, v. 125, n. 1, p. 243-248, 2004.
7

8 KEMNITZ, Joseph W. et al. Dietary restriction of adult male rhesus monkeys: design,
9 methodology, and preliminary findings from the first year of study. **Journal of**
10 **Gerontology**, v. 48, n. 1, p. B17-B26, 1993.
11

12 KERKSICK, Chad M. et al. Impact of differing protein sources and a creatine containing
13 nutritional formula after 12 weeks of resistance training. **Nutrition**, v. 23, n. 9, p. 647-656,
14 2007.
15

16 KERKSICK, Chad M. et al. The effects of protein and amino acid supplementation on
17 performance and training adaptations during ten weeks of resistance training. **The Journal**
18 **of Strength & Conditioning Research**, v. 20, n. 3, p. 643-653, 2006.
19

20 KIRKENDALL, Donald T. et al. The influence of Ramadan on physical performance
21 measures in young Muslim footballers. **Journal of Sports Sciences**, v. 26, n. S3, p. S15-
22 S27, 2008.
23

24 KLEMPPEL, Monica C.; KROEGER, Cynthia M.; VARADY, Krista A. Alternate day
25 fasting (ADF) with a high-fat diet produces similar weight loss and cardio-protection as
26 ADF with a low-fat diet. **Metabolism**, v. 62, n. 1, p. 137-143, 2013.
27

28 KRAUT, Jeffrey A.; KURTZ, Ira. Metabolic acidosis of CKD: diagnosis, clinical
29 characteristics, and treatment. **American journal of kidney diseases**, v. 45, n. 6, p. 978-
30 993, 2005.
31

32 KRAUT, Jeffrey A.; MADIAS, Nicolaos E. Metabolic acidosis: pathophysiology,
33 diagnosis and management. **Nature Reviews Nephrology**, v. 6, n. 5, p. 274-285, 2010.
34

35 KUMAR, Vinod et al. Age-related differences in the dose–response relationship of muscle
36 protein synthesis to resistance exercise in young and old men. **The Journal of physiology**,
37 v. 587, n. 1, p. 211-217, 2009.
38

39 LECHEMINANT, James D. et al. Restricting night-time eating reduces daily energy intake
40 in healthy young men: a short-term cross-over study. **British journal of nutrition**, v. 110,
41 n. 11, p. 2108-2113, 2013.
42

43 LEIPER, John B. et al. Alteration of subjective feelings in football players undertaking
44 their usual training and match schedule during the Ramadan fast. **Journal of Sports**
45 **Sciences**, v. 26, n. S3, p. S55-S69, 2008.
46

47 LONGO, Valter D.; MATTSON, Mark P. Fasting: molecular mechanisms and clinical
48 applications. **Cell metabolism**, v. 19, n. 2, p. 181-192, 2014.
49

1 MARSHALL, N. D. Therapeutic applications of whey protein. **Alternative Medicine**
2 **Review**, v. 9, n. 2, p. 136-156, 2004.
3

4 MATTSON, Mark P. Challenging oneself intermittently to improve health. **Dose-**
5 **Response**, v. 12, n. 4, p. dose-response. 14-028. Mattson, 2014.
6

7 MATTSON, Mark P. et al. Meal frequency and timing in health and disease. **Proceedings**
8 **of the National Academy of Sciences**, v. 111, n. 47, p. 16647-16653, 2014.
9

10 MATTSON, Mark P. Hormesis defined. **Ageing research reviews**, v. 7, n. 1, p. 1-7, 2008.
11

12 MAUGHAN, R. J. et al. Fasting and sports: a summary statement of the IOC
13 workshop. **British journal of sports medicine**, p. bjsports73064, 2010.
14

15 MCGLORY, Chris; DEVRIES, Michaela C.; PHILLIPS, Stuart M. Skeletal muscle and
16 resistance exercise training; the role of protein synthesis in recovery and
17 remodelling. **Journal of Applied Physiology**, p. jap. 00613.2016, 2016.
18

19 MEMARI, Amir-Hossein et al. Effect of Ramadan fasting on body composition and
20 physical performance in female athletes. **Asian journal of sports medicine**, v. 2, n. 3, p.
21 161-166, 2011.
22

23 MESBAHZADEH, B.; GHIRAVANI, Z.; MEHRJOOFARD, H. Effect of Ramadan
24 fasting on secretion of sex hormones in healthy single males. **Eastern Mediterranean**
25 **Health Journal**, 11(5-6):1120-3, 2005.
26

27 METZ, Matthew C. et al. Seasonal patterns of predation for gray wolves in the multi-prey
28 system of Yellowstone National Park. **Journal of Animal Ecology**, v. 81, n. 3, p. 553-563,
29 2012.
30

31 MILLER, Benjamin F. et al. Coordinated collagen and muscle protein synthesis in human
32 patella tendon and quadriceps muscle after exercise. **The Journal of physiology**, v. 567, n.
33 3, p. 1021-1033, 2005.
34

35 MITCHELL, Cameron J. et al. Muscular and systemic correlates of resistance training-
36 induced muscle hypertrophy. **PLoS one**, v. 8, n. 10, p. e78636, 2013.
37

38 MITCHELL, Cameron J. et al. Resistance exercise load does not determine training-
39 mediated hypertrophic gains in young men. **Journal of applied physiology**, v. 113, n. 1, p.
40 71-77, 2012.
41

42 MORATO, P. N. et al. A dipeptide and an amino acid present in whey protein hydrolysate
43 increase translocation of GLUT-4 to the plasma membrane in Wistar rats. **Food chemistry**,
44 v. 139, n. 1, p. 853-859, 2013.
45

46 MUJIKA, Iñigo; CHAOUACHI, Anis; CHAMARI, Karim. Precompetition taper and
47 nutritional strategies: special reference to training during Ramadan intermittent
48 fast. **British Journal of Sports Medicine**, v. 44, n. 7, p. 495-501, 2010.
49

- 1 NEMATY, Mohsen et al. Effects of Ramadan fasting on cardiovascular risk factors: a
2 prospective observational study. **Nutrition journal**, v. 11, n. 1, p. 69, 2012.
3
- 4 NG, Marie et al. Global, regional, and national prevalence of overweight and obesity in
5 children and adults during 1980–2013: a systematic analysis for the Global Burden of
6 Disease Study 2013. **The Lancet**, v. 384, n. 9945, p. 766-781, 2014.
7
- 8 NORTON, Layne E.; LAYMAN, Donald K. Leucine regulates translation initiation of
9 protein synthesis in skeletal muscle after exercise. **The Journal of nutrition**, v. 136, n. 2,
10 p. 533S-537S, 2006.
11
- 12 OGASAWARA, Riki et al. The order of concurrent endurance and resistance exercise
13 modifies mTOR signaling and protein synthesis in rat skeletal muscle. **American Journal
14 of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, v. 306, n. 10, p. E1155-E1162, 2014.
15
- 16 OMODEI, Daniela; FONTANA, Luigi. Calorie restriction and prevention of age-
17 associated chronic disease. **FEBS letters**, v. 585, n. 11, p. 1537-1542, 2011.
18
- 19 PANOWSKI, Siler H. et al. PHA-4/Foxa mediates diet-restriction-induced longevity of *C.*
20 *elegans*. **Nature**, v. 447, n. 7144, p. 550-555, 2007.
21
- 22 PENNINGS, Bart et al. Whey protein stimulates postprandial muscle protein accretion
23 more effectively than do casein and casein hydrolysate in older men. **The American
24 journal of clinical nutrition**, v. 93, n. 5, p. 997-1005, 2011.
25
- 26 PERRY, Rachel J. et al. The role of hepatic lipids in hepatic insulin resistance and type 2
27 diabetes. **Nature**, v. 510, n. 7503, p. 84-91, 2014.
28
- 29 PROUD, Christopher G. mTORC1 signalling and mRNA translation. **Biochemical Society
30 Transactions**, v. 37, n. 1, p. 227-231, 2009.
31
- 32 RAICHLIN, David A.; GORDON, Adam D. Relationship between exercise capacity and
33 brain size in mammals. **PLoS one**, v. 6, n. 6, p. e20601, 2011.
34
- 35 RAMADAN, J. Does fasting during Ramadan alter body composition, blood constituents
36 and physical performance?. **Medical Principles and Practice**, v. 11, n. Suppl. 2, p. 41-46,
37 2002.
38
- 39 RASMUSSEN, Blake B.; PHILLIPS, Stuart M. Contractile and nutritional regulation of
40 human muscle growth. **Exercise and sport sciences reviews**, v. 31, n. 3, p. 127-131, 2003.
41
- 42 REILLY, Thomas; WATERHOUSE, Jim. Altered sleep–wake cycles and food intake: The
43 Ramadan model. **Physiology & behavior**, v. 90, n. 2, p. 219-228, 2007.
44
- 45 RIDKER, Paul M. On evolutionary biology, inflammation, infection, and the causes of
46 atherosclerosis. **Circulation**, v. 105, n. 1, p. 2-4, 2002.
47
- 48 RISTOW, Michael. Unraveling the truth about antioxidants: mitohormesis explains ROS-
49 induced health benefits. **Nature medicine**, v. 20, n. 7, p. 709-711, 2014.

1
2 RIZZA, Wanda; VERONESE, Nicola; FONTANA, Luigi. What are the roles of calorie
3 restriction and diet quality in promoting healthy longevity?. **Ageing research reviews**, v.
4 13, p. 38-45, 2014.
5
6 ROTH, George S.; INGRAM, Donald K.; LANE, Mark A. Caloric restriction in primates
7 and relevance to humans. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 928, n. 1, p.
8 305-315, 2001.
9
10 SAKAMOTO, Kazuko; GRUNEWALD, Katharine K. Beneficial effects of exercise on
11 growth of rats during intermittent fasting. **The Journal of nutrition**, v. 117, n. 2, p. 390-
12 395, 1987.
13
14 SALTER, A. M. Dietary fatty acids and cardiovascular disease. **Animal**, v. 7, n. s1, p. 163-
15 171, 2013.
16
17 SEIMON, Radhika V. et al. Do intermittent diets provide physiological benefits over
18 continuous diets for weight loss? A systematic review of clinical trials. **Molecular and**
19 **cellular endocrinology**, v. 418, p. 153-172, 2015.
20
21 SHAYGAN, N. The effects of Ramadan fasting on endurance running performance in
22 male athletes. **Int J Sport Studies**, v. 1, n. 1, p. 18-22, 2011.
23
24 SHIMAZU, Tadahiro et al. Suppression of oxidative stress by β -hydroxybutyrate, an
25 endogenous histone deacetylase inhibitor. **Science**, v. 339, n. 6116, p. 211-214, 2013.
26
27 SHIRREFFS, Susan M.; MAUGHAN, Ronald J. Water and salt balance in young male
28 football players in training during the holy month of Ramadan. **Journal of Sports**
29 **Sciences**, v. 26, n. S3, p. S47-S54, 2008.
30
31 STANNARD, Stephen R.; THOMPSON, Martin W. The effect of participation in
32 Ramadan on substrate selection during submaximal cycling exercise. **Journal of Science**
33 **and Medicine in Sport**, v. 11, n. 5, p. 510-517, 2008.
34
35 STRÖHLE, Alexander; HAHN, Andreas; SEBASTIAN, Anthony. Estimation of the diet-
36 dependent net acid load in 229 worldwide historically studied hunter-gatherer
37 societies. **The American journal of clinical nutrition**, v. 91, n. 2, p. 406-412, 2010.
38
39 SUN, Yan et al. Phospholipase D1 is an effector of Rheb in the mTOR
40 pathway. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 105, n. 24, p. 8286-8291,
41 20
42
43 TANG, Jason E. et al. Ingestion of whey hydrolysate, casein, or soy protein isolate: effects
44 on mixed muscle protein synthesis at rest and following resistance exercise in young
45 men. **Journal of applied physiology**, v. 107, n. 3, p. 987-992, 2009.
46
47 TANG, Jason E. et al. Resistance training alters the response of fed state mixed muscle
48 protein synthesis in young men. **American Journal of Physiology-Regulatory,**
49 **Integrative and Comparative Physiology**, v. 294, n. 1, p. R172-R178, 2008.

1
2 TAPSELL, L. et al. Short term effects of energy restriction and dietary fat sub-type on
3 weight loss and disease risk factors. **Nutrition, Metabolism and Cardiovascular**
4 **Diseases**, v. 20, n. 5, p. 317-325, 2010.
5
6 TARNOPOLSKY, Mark. Protein requirements for endurance athletes. **Nutrition**, v. 20, n.
7 7, p. 662-668, 2004.
8
9 TERZIS, Gerasimos et al. Resistance exercise-induced increase in muscle mass correlates
10 with p70S6 kinase phosphorylation in human subjects. **European journal of applied**
11 **physiology**, v. 102, n. 2, p. 145-152, 2008.
12
13 TILLOTSON, James E. America's obesity: conflicting public policies, industrial economic
14 development, and unintended human consequences. **Annu. Rev. Nutr.**, v. 24, p. 617-643,
15 2004.
16
17 TINSLEY, Grant M.; LA BOUNTY, Paul M. Effects of intermittent fasting on body
18 composition and clinical health markers in humans. **Nutrition reviews**, p. nuv041, 2015.
19
20 TRABELSI, Khaled et al. Effect of fed-versus fasted state resistance training during
21 Ramadan on body composition and selected metabolic parameters in
22 bodybuilders. **Journal of the International Society of Sports Nutrition**, v. 10, n. 1, p. 1,
23 2013.
24
25 TRABELSI, Khaled et al. Effect of Ramadan fasting on body water status markers after a
26 Rugby sevens match. **Asian journal of sports medicine**, v. 2, n. 3, p. 186, 2011.
27
28 TURNER, Nigel et al. Fatty acid metabolism, energy expenditure and insulin resistance in
29 muscle. **Journal of Endocrinology**, v. 220, n. 2, p. T61-T79, 2014.
30
31 VARADY, K. A. et al. Effects of modified alternate-day fasting regimens on adipocyte
32 size, triglyceride metabolism, and plasma adiponectin levels in mice. **Journal of lipid**
33 **research**, v. 48, n. 10, p. 2212-2219, 2007.
34
35 VARADY, Krista A. et al. Alternate day fasting for weight loss in normal weight and
36 overweight subjects: a randomized controlled trial. **Nutrition journal**, v. 12, n. 1, p. 1,
37 2013.
38
39 VARADY, Krista A. et al. Short-term modified alternate-day fasting: a novel dietary
40 strategy for weight loss and cardioprotection in obese adults. **The American journal of**
41 **clinical nutrition**, v. 90, n. 5, p. 1138-1143, 2009.
42
43 VARADY, Kristina A. Intermittent versus daily calorie restriction: which diet regimen is
44 more effective for weight loss?. **obesity reviews**, v. 12, n. 7, p. e593-e601, 2011.
45
46 VASCONCELOS, Andrea R. et al. Intermittent fasting attenuates lipopolysaccharide-
47 induced neuroinflammation and memory impairment. **Journal of neuroinflammation**, v.
48 11, n. 1, p. 1, 2014.
49

1 WALKER, Dillon K. et al. Exercise, amino acids and aging in the control of human
2 muscle protein synthesis. **Medicine and science in sports and exercise**, v. 43, n. 12, p.
3 2249, 2011.
4
5 WAN, Ruiqian; CAMANDOLA, Simonetta; MATTSON, Mark P. Intermittent fasting and
6 dietary supplementation with 2-deoxy-D-glucose improve functional and metabolic
7 cardiovascular risk factors in rats. **FASEB journal**, v. 17, n. 9, p. 1133-1134, 2003.
8
9 WAN, Ruiqian; CAMANDOLA, Simonetta; MATTSON, Mark P. Intermittent food
10 deprivation improves cardiovascular and neuroendocrine responses to stress in rats. **The**
11 **Journal of nutrition**, v. 133, n. 6, p. 1921-1929, 2003.
12
13 WEST, Daniel WD et al. Elevations in ostensibly anabolic hormones with resistance
14 exercise enhance neither training-induced muscle hypertrophy nor strength of the elbow
15 flexors. **Journal of Applied Physiology**, v. 108, n. 1, p. 60-67, 2010.
16
17 WILKINSON, Daniel J. et al. A validation of the application of D2O stable isotope tracer
18 techniques for monitoring day-to-day changes in muscle protein subfraction synthesis in
19 humans. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, v. 306, n. 5,
20 p. E571-E579, 2014.
21
22 WILKINSON, Sarah B. et al. Differential effects of resistance and endurance exercise in
23 the fed state on signalling molecule phosphorylation and protein synthesis in human
24 muscle. **The journal of physiology**, v. 586, n. 15, p. 3701-3717, 2008.
25
26 WOLFE, Robert R. Skeletal muscle protein metabolism and resistance exercise. **The**
27 **Journal of nutrition**, v. 136, n. 2, p. 525S-528S, 2006.
28
29 YOON, Mee-Sup et al. Class III PI-3-kinase activates phospholipase D in an amino acid-
30 sensing mTORC1 pathway. **The Journal of cell biology**, v. 195, n. 3, p. 435-447, 2011.
31
32 YOU, Jae-Sung et al. The role of diacylglycerol kinase ζ and phosphatidic acid in the
33 mechanical activation of mammalian target of rapamycin (mTOR) signaling and skeletal
34 muscle hypertrophy. **Journal of Biological Chemistry**, v. 289, n. 3, p. 1551-1563, 2014
35
36 ZERGUINI, Yacine et al. Influence of Ramadan fasting on physiological and performance
37 variables in football players: summary of the F-MARC 2006 Ramadan fasting
38 study. **Journal of Sports Sciences**, v. 26, n. S3, p. S3-S6, 2008.
39
40 ZIMMET, P.; THOMAS, C. R. Genotype, obesity and cardiovascular disease—has
41 technical and social advancement outstripped evolution?. **Journal of internal medicine**, v.
42 254, n. 2, p. 114-125, 2003.
43
44

5 ANEXOS

5.1 Artigo 1: Previous whey protein consumption and strength exercise improve 4ebp1 phosphorylation expression in muscle after 12hrs intermittent fasting

**PREVIOUS WHEY PROTEIN CONSUMPTION AND STRENGTH EXERCISE
IMPROVE 4EBP1 PHOSPHORYLATE EXPRESSION IN MUSCLE AFTER
12HRS INTERMITTENT FASTING**

Santos Junior*, V.A., Morato, P.N., Souza, G.G., Amaya-Farfan, J., Lollo, P.C.B.

Abstract: Intermittent Fasting is an alternative strategy that could promote effects similar to those observed with continuous dietary restriction. However, inadequate feed of daily protein and fasting can be linked to reduction fat-free mass. Thus, the aim of this study was analyse the acute effect of strength exercise associated with whey protein (WP) consumption during acute intermittent fasting (12hs) in intracellular targets of protein synthesis. Male Wistar rats were divided in rest and exercised rats. The exercised were submitted to acute SE in a weight-lifting model. Concomitant consumption of WP or water control before 12 hours of intermittent fasting was investigated. The expression of 4EBP1 and phospho-4EBP1 and heat shock proteins (HSP70 and HSP90) was analyzed by immunoblotting. Consumption of WP and/or strength exercise before the intermittent fasting period increases phospho-4EBP1 expression in the same extent in the soleus muscle and overall 4EBP1 was increased with consumption of WP. Intermittent fasting induces an increase of phospho-4EBP1 in the diaphragm and was an important effect on muscle HSP70 expression. However, there were no significant changes in the expression of HSP90 in the soleus. In the diaphragm the association of protein consumption and strength exercise increases the expression of HSP70 and HSP90, with a significant increase in expression after 12 hours of intermittent fasting. In summary, previous strength exercise and consumption of WP may lead to improve in phosphorylation of cellular target of protein synthesis and can improve muscle mass maintenance in both, soleus and diaphragm muscle and intermittent fasting can increase heat shock protein expression in muscle tissue.

Key-words: Protein metabolism. Muscle maintenance. Protein synthesis. Physical exercise. mTOR. Supplementation.

* Corresponding author

Introduction

Dietary restriction is a nutritional approach widely used for weight loss and involves a reduction in the total of caloric intake ingested daily (Omodei and Fontana, 2011), however, prolonged adherence it may be difficult for most people (Anastasiou et al., 2015). Intermittent Fasting is an alternative strategy that could promote effects similar to those observed with dietary restriction (Mattson and Wan, 2005) in fat loss (Varady et al., 2007; Gotthardt et al., 2016) and lifespan (Honjoh et al., 2009). The intermittent fasting can be understand as cycles of access to feed and fasting period (Tisley et al., 2016).

However, inadequate feed, mainly in daily protein, can be linked to reduction fat-free mass (Andrews, MacLean and Riechman, 2006) and this has been described as one of the major challenges for weight loss given the influence of muscle mass on whole metabolism (Atlantis et al., 2009). Maintenance of fat-free mass depends on the balance between protein synthesis (PS) and protein degradation (PD).

The role of molecular cascades in the regulation of protein synthesis, mainly the role of mammalian target of rapamycin (mTOR). Eukaryotic translation initiation factor 4E binding protein 1 (4EBP1), the final downstream target of mTOR cascade protein was described as a target that correlates with mTOR activation (Morley et al., 2005; Proud et al., 2007). Indeed, phosphorylation of 4EBP1 was significantly decreased in lean subjects after fasting indicating a loss in protein synthesis (Bak et al., 2016).

Whey protein (WP) consumption significantly influences the synthesis of proteins because they are proteins with high nutritional quality and rapid absorption kinetics,

providing a rapid increase of amino acids and peptides (Morato et al., 2013) in plasma. A meta-analysis demonstrated a significant increase in lean mass between studies that performed strength exercise concomitantly with WP intake (Miller, Alexander and Perez, 2014). Thus, strength exercise and protein are stimuli for protein synthesis acutely via activation of mTOR downstream, and the sum these acute changes correlates with an increase in muscle mass (Terzis et al., 2008).

Since, due to: 1) widely use of intermittent fasting linked to weight loss; 2) metabolic need to maintain muscle mass; 3) evidence that strength exercise associated with WP consumption are effective strategies for maintaining/increasing muscle mass; 4) poor scientific evidences of the effects of association between acute strength exercise and intermittent fasting, we hypothesized that strength exercise associated with WP consumption could lead to molecular changes favoring protein synthesis during acute intermittent fasting (12hs). Then, during acute intermittent fasting after strength exercise and WP consumption we analyze: expression of 4EBP1 (mTOR target) total and phosphorylated; muscle damage markers (creatine kinase and lactate dehydrogenase) and heat shock proteins (70 and 90 Kda).

2. Material and methods

2.1. Animals

Forty-eight male (21-day-old) Wistar rats, bred at the LabFex (UNIFAL, MG, Brazil), were housed (~22 °C, 55% relative humidity, inverted 12-h light/12-h dark cycles) in growth cages, with free access to commercial chow and water at all times, until

they reached a body weight of $251,18 \pm 16,16$ g. The research methodology was approved by the Ethics Committee on Animal Experimentation (CEEAA-UFMG, protocol 06/2016).

The experimental design was created to analyze the acute effects of strength exercise and WP consumption and its effects after 12hrs of fasting. The animals were randomly by initial weight and assigned to 1 of 8 groups (n= 6 per group): rest control (R-C); exercised control (E-C); rest whey protein (R-WP) exercised whey protein (E-WP); rest control (R-C12h) and exercised control after 12hrs fasted (E-C12h); rest whey protein (R-WP12h) and exercised whey protein (E-WP12h) after 12hrs fasted, how show figure 1.A). Fast period was defined because trial that implemented ~12hrs fasting/day has demonstrated consistent reductions in body weight in humans (Nematy et al., 2012; LeCheminant et al., 2013; Zare et al., 2011; Ziaee et al., 2006) and been more relevant to weight loss/fat free mass maintenance.

How illustrated in figure 1.B, the animals in protein groups were gavaged with relative to 25% of dairy protein ($0,87 \pm 0,07$ g) of the WP isolate or the same volume of water to controls groups postexercise. Euthanasia occurred one hour after drinking, in the animals submitted to fasting was performed after 12 hours of fasted, on hour after the second dose of treatment.

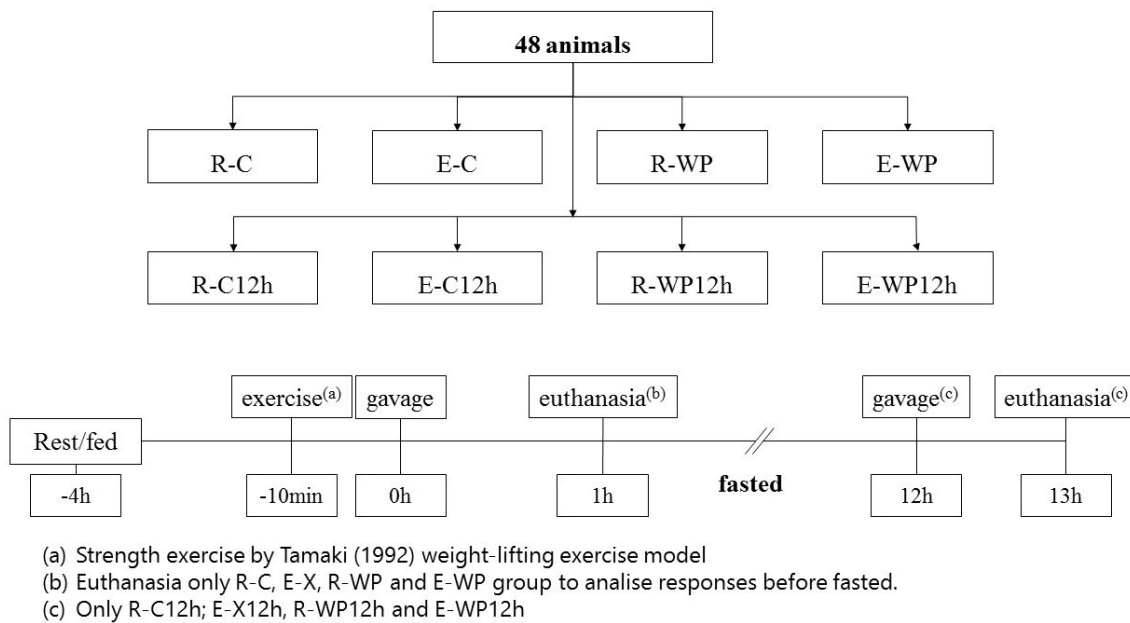


Figure 1- Study design

2.2. Exercise protocol

Acute strength exercise was performed using a Tamaki weight-lifting exercise model (Tamaki, Uchiyama and Nakno, 1992). Rats were fitted with a canvas jacket adequate to regulate the twisting and flexing of their torsos and were suspended in a standard position on their hindlimbs. The rats flexed their legs repeatedly, which lifted the weight-arm of the exercise apparatus. An electrical stimulation (25A, 0.3-second duration at 3-second intervals) was applied to the rat's tail through a surface electrode using an electrostimulator.

The acute exercise was performed after a two days of adaptation (96hrs intervals between the acute exercise and the last day of adaptation) to familiarize the animals to apparatus and exercise, reducing the effects of stress as described by Galdino et al. (2014). The measurement of the maximum weight lifted (1 repetition maximum) was performed

with a separate group of animals to not influence the results of an acute exercise session (Clarkson and Hubal, 2002; Chen *et al.*, 2007; Chen *et al.*, 2009). The exercise load was set a 85% of maximum repetition to mimic a strength exercise bout (D'souza *et al.*, 2014)

2.6. Biochemical parameters

Blood samples were collected, maintained at 4 °C, and centrifuged at 3000 ×g (4 °C, 12 min) to obtain serum for the assessment of creatine kinase (CK) and lactate dehydrogenase (LDH) in triplicate measurements. Standard spectrophotometric determinations were carried out using commercial laboratory kits in microplate reader according to specific kit recommendations.

2.8. Protein extraction and immunoblotting

The samples of soleus and diaphragm muscle were prepared as described previously (Lollo *et al.*, 2013), by homogenizing ~100 mg of frozen tissue in Triton buffer (100 mM Tris, pH 7.4, 1% Triton X-100) containing 100 mM sodium pyrophosphate, 100 mM NaF, 10 mM EDTA, 10 mM Na₃VO₄, 2 mM PMSF and 0.1 mg/mL aprotinin. The total protein content of the muscle samples was determined.

For immunoblotting, tissue homogenates were subjected to SDS-PAGE and transferred onto a nitrocellulose membrane. The blots were probed with the appropriate antibodies to determine the total 4EBP1 (dilution 1:1000, ref#A300-501A) using Bethyl

laboratories antibodies; phospho-4EBP1 (thr 37/46, dilution 1:1000, ref #9459) using cell signaling and the heat shock proteins 70kda (dilution 1:1000, ref#ADI-SPA-810) and 90kda (dilution 1:1000, ref#ADI-SPA-831) using Enzo life Science. Tubulin was the loading control (dilution 1:2000, ref#sc-8035) used to assess the protein levels in the tissues. The appropriate secondary antibody conjugated to peroxidase and the BM chemiluminescence blotting system were used for detection. The bands were visualized by chemiluminescence and the band intensities were quantified by processing with the ImageJ program (v. 1.44).

2.9. Statistical analysis

Was used the SPSS statistical software (version 17.0, SPSS Inc., Chicago, IL). The monovariate ANOVA was used for parametric data, and the means compared using the Duncan test, adopting a value of $P \leq 0.05$ as the criterion for statistical significance

Results

Protein metabolism in muscle

The association between WP intake and strength exercise does not present a synergistic or cumulative effect. Consumption of WP and/or strength exercise before the intermittent fasting period increases phospho-4EBP1 expression in the same intensity in the skeletal muscle (figura 2.A). The expression of 4EBP1 in its total form is increased

with consumption of WP (Figura 2.B). After the intermittent fasting period (12hrs) both exercise and WP intake were able to increase the expression of total 4EBP1 in the soleus muscle.

Intermittent fasting induces an increase of phospho-4EBP1 in the diaphragm. After 12 hours of intermittent fasting there was a marked increase in phospho-4EBP1 expression in all groups regardless of the interventions (Figura 2.C). However, changes in total 4EBP1 expression were less expressive, showing a short increase after 12 hrs of fasting in the exercised groups and in the rest control group, with no significant difference for the rest WP group (Figura 2.D).

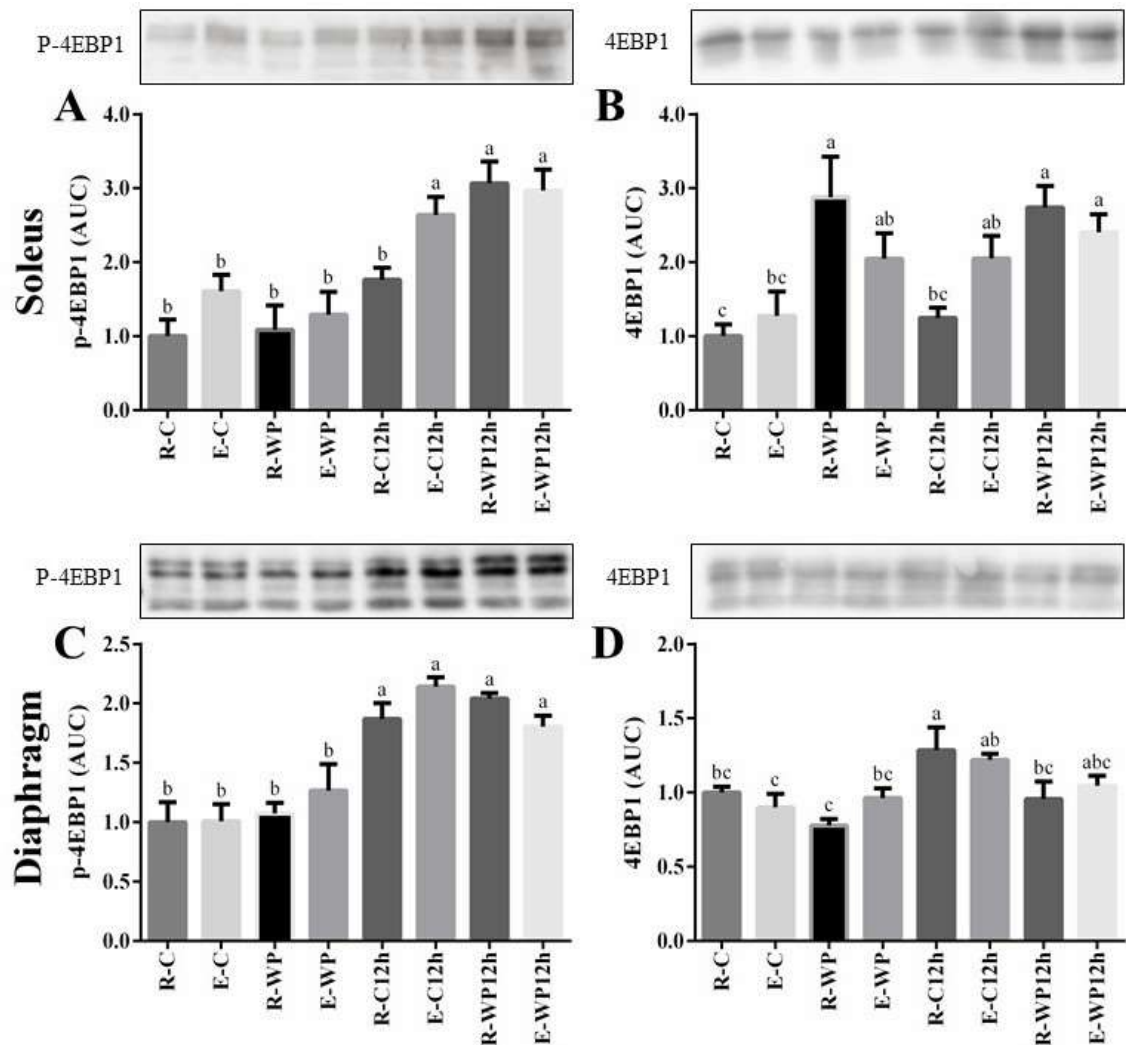


Figure 2 – 4EBP1 and phosphorylated 4EBP1 response in soleus and diaphragm muscle. ANOVA was performed and means were compared by Duncan post hoc test. Different letters indicate significant differences between groups. The value of $p < 0.05$ was adopted as a criterion for statistical significance. Experimental groups: R-C, rest control; E-C, exercised control; R-WP, rest whey protein; E-WP, exercised whey protein; R-C12h, rest control after 12h fasting; E-C12h, exercised control after 12h fasting; R-WP12h, rest whey protein after 12h fasting; E-WP12h, exercised whey protein after 12h fasting.

Heat shock protein

In figure 3 we shows the expression and pattern of response of HSP70 and HSP90 in the soleus and diaphragm muscle. After 12 hours of intermittent fasting, the response to HSP70 expression in the soleus muscle was similar between treatments. Demonstrating an important effect of intermittent fasting on muscle HSP70 expression (Figura 3.A). However, there were no significant changes in the expression of HSP90 in the soleus acutely and after 12hrs of intermittent fasting (Figura 3.B).

In the diaphragm the association of protein consumption and strength exercise increases the expression of HSP70 and HSP90, with a significant increase in expression after 12 hours of intermittent fasting (Figure 3.C and D) showing a synergistic response between treatments.

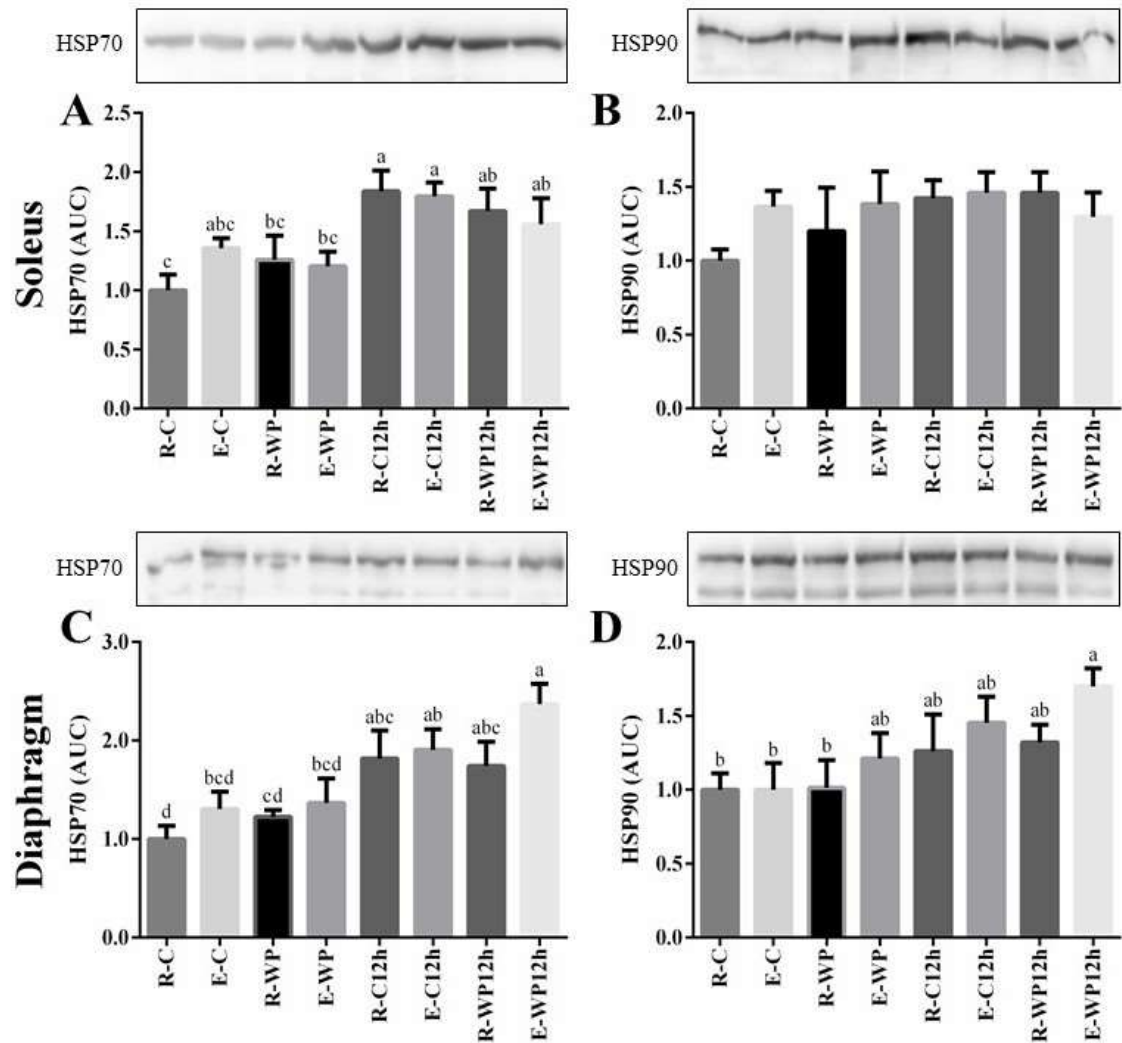


Figure 3 – HSP70 and HSP90 expression in soleus and diaphragm muscle. ANOVA was performed and means were compared by Duncan post hoc test. Different letters indicate significant differences between groups. The value of $p < 0.05$ was adopted as a criterion for statistical significance. Experimental groups: R-C, rest control; E-C, exercised control; R-WP, rest whey protein; E-WP, exercised whey protein; R-C12h, rest control after 12h fasting; E-C12h, exercised control after 12h fasting; R-WP12h, rest whey protein after 12h fasting; E-WP12h, exercised whey protein after 12h fasting.

Serum muscle biochemical parameters

There was significant difference in CK and LDH values between exercised groups 1h and 12h post exercise regards rests groups. However, both exercised groups presented similar values of CK and LDH (figure 4). However, the experimental design does not contemplate the optimal points for the measurement of muscle damage markers and that may explain a lack of difference between the groups exercised.

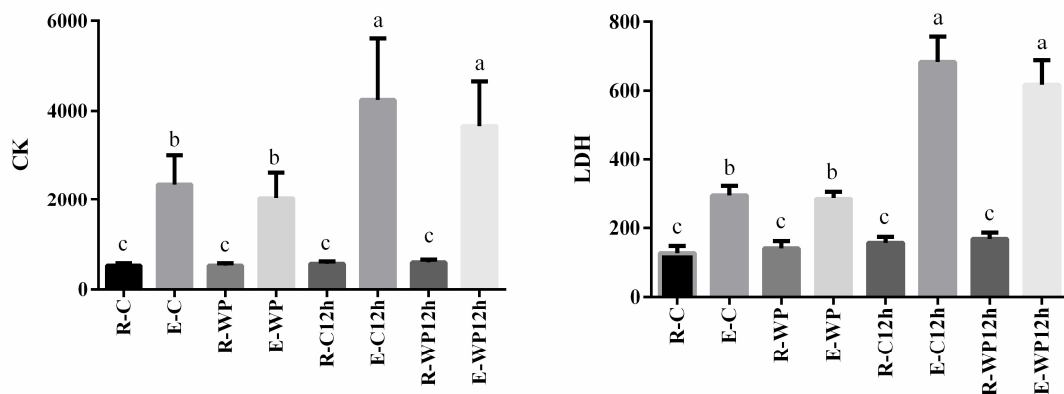


Figure 4 –Serum muscle damage markers. Ck: Creatine kinase; LDH: lactate dehydrogenase. ANOVA was performed and means were compared by Duncan post hoc test. Different letters indicate significant differences between groups. The value of $p < 0.05$ was adopted as a criterion for statistical significance. Experimental groups: R-C, rest control; E-C, exercised control; R-WP, rest whey protein; E-WP, exercised whey protein; R-C12h, rest control after 12h fasting; E-C12h, exercised control after 12h fasting; R-WP12h, rest whey protein after 12h fasting; E-WP12h, exercised whey protein after 12h fasting.

Discussion

We showed that consumption of WP, strength exercise or both, result in acute increase phosphorylation of 4EBP1 in muscle tissue after 12 hours of intermittent fasting. Surprisingly, in the 12hrs fasting diaphragm increased the phosphorylation of 4EBP1. WP associated with strength exercise previous fasting increased the expression of HSP70 and HSP90 in the diaphragm, however, in soleus there is an increase only in HSP70 expression after fasting period.

Strength exercise or consumption WP leads increase in phosphorylation of mTOR protein target 4EBP1 acutely (Figure 2). This alteration is linked to long-term muscle mass maintenance and this can help during intermittent fasting (Terzis et al., 2008).

In the first studies about intermittent fasting, Sakamoto and Grunewald (1987) was verified that animals subjected to intermittent fasting associated with physical exercise had 29% more lean mass and 18% less fat in the carcass content than animals submitted only to intermittent fasting, suggesting a beneficial effect of the association of physical activity with nutritional intervention.

Current studies have also shown that intermittent fasting associated with strength exercise decreases adipose tissue and maintain muscle mass in trained individuals (Moro et al., 2016). Tinsley et al. (2016) demonstrated that fasting not affect the lean mass gain and muscular performance in young adults. The fat-free mass/fat mass ratio is usually higher in animals submitted to intermittent fasting than those subjected to only continuous dietary restriction of 30-40% daily (Gotthardt et al., 2016).

The strength exercise could sensitizes the muscle to a subsequent increase in aminoacidemia (Pennings et al., 2011) and this could serve as a compensatory response during intermittent fasting. Strength exercise is a powerful stimulus for maintaining muscle mass (Wernnnborn, Augustsson and Thomee, 2007). There is a considerable number of evidence that high-quality protein intake associated with strength exercise increases adaptive responses (Cermak et al., 2012) in particular WP (Lollo, Amaya-Farfan and Carvalho-Silva, 2011; Miller, Alexander and Perez, 2014).

In light of this results, the WP intake could support a positive period in the nitrogen balance and the maintenance of the muscle mass (Morton, McGlory and Phillips, 2015). It is important to emphasize that we study the consumption of proteins and not a form of supplementation (i.e, consumption of protein over and above a habitual protein intake).

The main mechanism by WP and strength exercise increase the protein synthesis is the activation of mTOR, once activated, phosphorylates downstream target like 4EBP1 that lead protein synthesis (Kimball and Jefferson, 2004; Proud 2004; Proud, 2007; Atherton et al., 2005; Mayhew et al., 2009; Wilkinson et al., 2008). Thus, consumption of high quality proteins and strength exercise could explain the diferences in expression of 4EBP1 of our results or those described by Bak et al. (2016) wich demonstrates a reduction in phosphorylation of 4EBP1 in untrained individuals after fasting, evidencing the importance of these factors in maintaining muscle mass during intermittent fasting.

Therefore, based on the acute results, it seems that the consumption of WP and the exercise of strength associated with intermittent fasting would favor the maintenance

of muscle tissue (Terzis et al., 2008). However analyse chronic alterations are necessary to confirm this hypotheses.

The diaphragm catabolism can be harmful, especially in critical mechanically ventilated patients, because the respiratory deficient could be lethal (Yang et al., 2002), so the stimulation of anabolic pathways of diaphragm are of potential interest (Lollo et al., 2012). Lollo et al. (2012) showed that chronic physical exercise can increase anabolic responses in the diaphragm, while different protein sources (whey protein and casein plus leucine) presented a similar response.

Interestingly, 12hrs of intermittent fasting increased the expression of p-4EBP1 in the diaphragm with no differences for the interventions. The mTOR signalling have a positive correlation with muscle mass (Lang et al., 2012; Winbanks et al., 2012) and a negative correlation between autophagy (Alers et al., 2012). Therefore, this result is potentially new and could indicate an activation of mTOR downstream by the unknow pathways (see Qi et al., 2013).

Intermittent fasting increases HSP70 expression in soleus and diaphragm (Figure 3). HSPs are molecular chaperone proteins that are expressed by various types of stress (Rohde et al., 2005). HSPs are intracellular defense mechanisms that increase cell resistance under systemic stresses they are a mechanism of cellular control that by means of theses proteins are responsible for fold and refold damaged proteins, or eliminate irreversibly damaged proteins (Rohde et al., 2005).

HSP70 are considered a complementary antioxidant system (Silver and Noble, 2012). HSP70 may increase after the exercise because this are a conjunt of manies

stressful stimuli, as mechanic stress, hyperthermia and hypoxia (Khalil et al., 2011; Rohde et al., 2005).

The increase in HSP70 has been reported to promote longevity (Salway et al., 2011). Similarly, extensive evidence shows that animal models of intermittent fasting can improve longevity (Honjoh et al., 2009; Fontana, Partridge and Longo, 2010; Longo and Mattson, 2014). Activation of transcription factors heat shock factor-1 and other factors by upregulating HSP70 induces several antioxidant enzymes, prevents the age-dependent impairment of proteostasis and promotes the maintenance of cell structure (Akerfelt et al., 2010; Martín-Montalvo et al., 2011).

Taken together, the increase in HSP70 and its benefits could be one of the means by which intermittent fasting to increase citoprotection effect (Lanneau et al., 2008), improving cell resistance (Samali and Cotter, 1966), protect against reactive oxygen species production (Lee et al., 2005) and in muscle tissue the proteins has been show to protect from exercise-induced damage (Khassaf et al., 2001; Kinnunem et al., 2009).

Strength exercise associated with WP increases expression of HSP70 and HSP90 in diaphragm in a greater intensity. In previous study using endurance exercise protocol, has showed that WP hydrolysate increased HSP90 expression in the skeletal muscle of rats in both the sedentary and exercised groups, but in the exercised groups different protein sources did not alter the observed responses (Moura et al., 2014).

This is clear a systemic effect of intermittent fasting on HSP expression, the protocol have a hormesis effect, whereby fasting acts as a low-intensity stressor that protective effects via adaptive upregulation of cellular stress resistance pathways (Mattson, 2008). This low-intensity environmental stressors act like a biological dose-

response compensation characterized by low-dose stimulation and high-dose of inhibition (Mattson 2008a, Mattson 2008b; Kouida and Iki, 2010).

WP intake did not influence differences in post-exercise muscle damage markers. CK and LDH are both blood indicators of muscle damage (Byrne and Eston, 2002; Cooke et al., 2010). Moura et al. (2013) showed that CK and LDH has no significant alteration in relation to the diet.

However, its consensus that CK and LDH have a peak around 24 to 72 h postexercise (Cooke et al., 2010), in 12 h post-exercise group there was a significant increase in the groups exercised but without differences between the groups with WP or control, perhaps in later and more adequate peak periods of these markers we might have noticed some difference in these markers given the role of muscle damage secondary to mechanical injury induced by exercise (Pizza *et al.*, 2005; Tee and Bosch, 2007; Baird *et al.*, 2012) and studies could investigate the response of these markers in laboratory models of chronic exercise-associated intermittent fasting, given the role of muscle damage in impairment in replacement of glycogen (Costill et al., 1990).

Conclusion

In summary, we showed that previous resistance exercise and consumption of WP may lead to improve in phosphorylation of intracellular target of protein synthesis in both, soleus and diaphragm muscle. Interestingly intermittent fasting increase heat shock protein expression in muscle tissue and possibly can increase the antioxidant system and mechanism of cellular defense. However, this results are measured by acute response of

intermittent fasting and the effect of long-term or chronic interventions remains unclear. New research should be conducted to elucidate these lacks. Regarding the retention of muscle mass in long-term intervention for weight loss are of public and health interest and this initial result shows that intermittent fasting plus resistance exercise and WP come to be an efficient strategy.

References

ÅKERFELT, M. MORIMOTO, R. I. SISTONEN, L. Heat shock factors: integrators of cell stress, development and lifespan. *Nature reviews Molecular cell biology*, v. **11**, n. 8, p. 545-555, 2010.

ALERS, S. et al. Role of AMPK-mTOR-Ulk1/2 in the Regulation of Autophagy: Cross Talk, Shortcuts, and Feedbacks. *Molecular and Cellular Biology* **32.1** (2012): 2–11

ANASTASIOU, C. A. KARFOPOULOU, E. YANNAKOULIA, M. Weight regaining: From statistics and behaviors to physiology and metabolism. *Metabolism*, v. **64**, n. 11, p. 1395-1407, 2015.

ANDREWS, R. D. MACLEAN, D. A. RIECHMAN, S. E. Protein intake for skeletal muscle hypertrophy with resistance training in seniors. *International journal of sport nutrition and exercise metabolism*, v. **16**, n. 4, p. 362, 2006.

ARUMUGAM, T. V. et al. Age and energy intake interact to modify cell stress pathways and stroke outcome. *Annals of neurology*, v. **67**, n. 1, p. 41-52, 2010.

ATHERTON, P. J. et al. Selective activation of AMPK-PGC-1 α or PKB-TSC2-mTOR signaling can explain specific adaptive responses to endurance or resistance training-like electrical muscle stimulation. *The FASEB journal*, v. **19**, n. 7, p. 786-788, 2005.

ATLANTIS, E. et al. Inverse associations between muscle mass, strength, and the metabolic syndrome. *Metabolism*, v. **58**, n. 7, p. 1013-1022, 2009.

BAIRD, M. F. et al. Creatine-kinase-and exercise-related muscle damage implications for muscle performance and recovery. *Journal of nutrition and metabolism*, v. **12**, 2012.

BAK, A. M. et al. Differential regulation of lipid and protein metabolism in obese versus lean subjects before and after a 72 h fast. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 004(**64**).2015, 2016.

BYRNE, C. ESTON, R. Maximal-intensity isometric and dynamic exercise performance after eccentric muscle actions. *Journal of sports sciences*, v. **20**, n. 12, p. 951-959, 2002.

CERMAK, N. M. et al. Protein supplementation augments the adaptive response of skeletal muscle to resistance-type exercise training: a meta-analysis. *The American journal of clinical nutrition*, v. **96**, n. 6, p. 1454-1464, 2012.

CHEN, T. C. et al. Changes in running economy at different intensities following downhill running. *Journal of Sports Sciences*, v. **27**, n. 11, p. 1137-1144, 2009.

CHEN, T. C. NOSAKA, K. TU, J. H. Changes in running economy following downhill running. *Journal of sports sciences*, v. **25**, n. 1, p. 55-63, 2007.

CLARKSON, P. M. HUBAL, M. J. Exercise-induced muscle damage in humans. *American journal of physical medicine & rehabilitation*, v. **81**, n. 11, p. S52-S69, 2002.

COOKE, M. B. et al. Whey protein isolate attenuates strength decline after eccentrically-induced muscle damage in healthy individuals. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*, v. **7**, n. 1, p. 1, 2010.

COSTILL, D. L. et al. Impaired muscle glycogen resynthesis after eccentric exercise. *Journal of Applied Physiology*, v. **69**, n. 1, p. 46-50, 1990.

D'SOUZA, R. F. et al. Dose-dependent increases in p70S6K phosphorylation and intramuscular branched-chain amino acids in older men following resistance exercise and protein intake. *Physiological reports*, v. **2**, n. 8, p. e12112, 2014.

EVANS, W. J. What is sarcopenia?. *The Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences*, v. **50**, n. Special Issue, p. 5-8, 1995.

FAKHRZADEH, H. et al. Effect of Ramadan fasting on clinical and biochemical parameters in healthy adults. *Annals of Saudi medicine*, v. **23**, n. 3-4, p. 223, 2003.

FONTANA, L. PARTRIDGE, L. LONGO, V. D. Extending healthy life span—from yeast to humans. *science*, v. **328**, n. 5976, p. 321-326, 2010.

GALDINO, G. et al. Acute resistance exercise induces antinociception by activation of the endocannabinoid system in rats. *Anesthesia and analgesia*, v. **119**, n. 3, p. 702, 2014.

GOTTHARDT, J. D. et al. Intermittent Fasting Promotes Fat Loss with Lean Mass Retention, Increased Hypothalamic Norepinephrine Content, and Increased Neuropeptide Y Gene Expression in Diet-Induced Obese Male Mice. *Endocrinology*, v. **157**, n. 2, p. 679-691, 2016.

GUO, Z. et al. Beneficial Effects of Dietary Restriction on Cerebral Cortical Synaptic Terminals. *Journal of neurochemistry*, v. **75**, n. 1, p. 314-320, 2000.

HARTL, F. U. BRACHER, A. HAYER-HARTL, M. Molecular chaperones in protein folding and proteostasis. *Nature*, v. **475**, n. 7356, p. 324-332, 2011.

HONJOH, S. et al. Signalling through RHEB-1 mediates intermittent fasting-induced longevity in *C. elegans*. *Nature*, v. **457**, n. 7230, p. 726-730, 2009.

KHALIL, A. A. et al. Heat shock proteins in oncology: diagnostic biomarkers or therapeutic targets?. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Reviews on Cancer*, v. **1816**, n. 2, p. 89-104, 2011.

KHASSAF, M. et al. Time course of responses of human skeletal muscle to oxidative stress induced by nondamaging exercise. *Journal of Applied Physiology*, v. **90**, n. 3, p. 1031-1035, 2001.

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**, n. 1, p. 39-44, 2004.

KINNUNEN, S. et al. α -Lipoic acid supplementation enhances heat shock protein production and decreases post exercise lactic acid concentrations in exercised standardbred trotters. *Research in veterinary science*, v. **87**, n. 3, p. 462-467, 2009.

KOUDA, K. IKI, M. Beneficial effects of mild stress (hormetic effects): dietary restriction and health. *Journal of physiological anthropology*, v. **29**, n. 4, p. 127-132, 2010.

LANG, S. M. et al. Delayed recovery of skeletal muscle mass following hindlimb immobilization in mTOR heterozygous mice. *PloS one*, v. **7**, n. 6, p. e38910, 2012.

LANNEAU, D. et al. Heat shock proteins: essential proteins for apoptosis regulation. *Journal of cellular and molecular medicine*, v. **12**, n. 3, p. 743-761, 2008.

LECHEMINANT, J. D. et al. Restricting night-time eating reduces daily energy intake in healthy young men: a short-term cross-over study. *British journal of nutrition*, v. **110**, n. 11, p. 2108-2113, 2013.

LEE, M. et al. Down-regulated reactive oxygen species by HSP90 in 3HK-induced SKN-SH cell death. *Journal of Thermal Biology*, v. **30**, n. 1, p. 43-49, 2005.

LOLLO, P. AMAYA-FARFAN, J. DE CARVALHO-SILVA, L. Physiological and physical effects of different milk protein supplements in elite soccer players. *Journal of human kinetics*, v. **30**, p. 49-57, 2011.

LOLLO, P. C. B. et al. Effects of whey protein and casein plus leucine on diaphragm the mTOR pathway of sedentary, trained rats. *Food research international*, v. **49**, n. 1, p. 416-424, 2012.

LOLLO, P. C. et al. Differential response of heat shock proteins to uphill and downhill exercise in heart, skeletal muscle, lung and kidney tissues. *J Sports Sci Med*, v. **12**, n. 3, p. 461-466, 2013.

LONGO, V. D. MATTSON, M. P. Fasting: molecular mechanisms and clinical applications. *Cell metabolism*, v. **19**, n. 2, p. 181-192, 2014.

MARTÍN-MONTALVO, A. et al. NRF2, cancer and calorie restriction. *Oncogene*, v. **30**, n. 5, p. 505-520, 2011.

MATTSON, M. P. Dietary factors, hormesis and health. *Ageing research reviews*, v. **7**, n. 1, p. 43-48, 2008.

MATTSON, M. P. Hormesis defined. *Ageing research reviews*, v. **7**, n. 1, p. 1-7, 2008.

MATTSON, M. P. WAN, R. Beneficial effects of intermittent fasting and caloric restriction on the cardiovascular and cerebrovascular systems. *The Journal of nutritional biochemistry*, v. **16**, n. 3, p. 129-137, 2005.

MAYHEW, D L. et al. Translational signaling responses preceding resistance training-mediated myofiber hypertrophy in young and old humans. *Journal of applied physiology*, v. **107**, n. 5, p. 1655-1662, 2009.

MILLER, P. E. ALEXANDER, D. D. PEREZ, V. Effects of whey protein and resistance exercise on body composition: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Journal of the American College of Nutrition*, v. **33**, n. 2, p. 163-175, 2014.

MORATO, P. N. et al. A dipeptide and an amino acid present in whey protein hydrolysate increase translocation of GLUT-4 to the plasma membrane in Wistar rats. *Food chemistry*, v. **139**, n. 1, p. 853-859, 2013.

MORLEY, S. J. COLDWELL, M. J. CLEMENS, M. J. Initiation factor modifications in the preapoptotic phase. *Cell Death & Differentiation*, v. **12**, n. 6, p. 571-584, 2005.

MORO, T. et al. Effects of eight weeks of time-restricted feeding (16/8) on basal metabolism, maximal strength, body composition, inflammation, and cardiovascular risk factors in resistance-trained males. *Journal of Translational Medicine*, v. **14**, n. 1, p. 290, 2016.

MORTON, R. W. MCGLORY, C. PHILLIPS, S. M. Nutritional interventions to augment resistance training-induced skeletal muscle hypertrophy. *Frontiers in physiology*, v. **6**, 2015.

MOURA, C. S. et al. Whey protein hydrolysate enhances HSP90 but does not alter HSP60 and HSP25 in skeletal muscle of rats. *PloS one*, v. **9**, n. 1, p. e83437, 2014.

MOURA, C. S. et al. Whey protein hydrolysate enhances the exercise-induced heat shock protein (HSP70) response in rats. *Food chemistry*, v. **136**, n. 3, p. 1350-1357, 2013.

NEMATY, M. et al. Effects of Ramadan fasting on cardiovascular risk factors: a prospective observational study. *Nutrition journal*, v. **11**, n. 1, p. 1, 2012.

OMODEI, D. FONTANA, L. Calorie restriction and prevention of age-associated chronic disease. *FEBS letters*, v. **585**, n. 11, p. 1537-1542, 2011.

PENNINGS, B. et al. 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**, n. 2, p. 322-331, 2011.

PIZZA, F. X. et al. Neutrophils contribute to muscle injury and impair its resolution after lengthening contractions in mice. *The Journal of physiology*, v. **562**, n. 3, p. 899-913, 2005.

POLJSAK, B. Strategies for reducing or preventing the generation of oxidative stress. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, v. **(11)**, 2011.

POON, H. F. et al. Proteomics analysis provides insight into caloric restriction mediated oxidation and expression of brain proteins associated with age-related impaired cellular processes: Mitochondrial dysfunction, glutamate dysregulation and impaired protein synthesis. *Neurobiology of aging*, v. **27**, n. 7, p. 1020-1034, 2006.

PROUD, C. G. Amino acids and mTOR signalling in anabolic function. *Biochemical Society Transactions*, v. **35**, n. 5, p. 1187-1190, 2007.

PROUD, C. G. Role of mTOR signalling in the control of translation initiation and elongation by nutrients. In: *TOR*. Springer Berlin Heidelberg, 2004. p. 215-244.

QI, Z. ZHAI, X. DING, S. How to explain exercise-induced phenotype from molecular data: rethink and reconstruction based on AMPK and mTOR signaling. *SpringerPlus*, v. **2**, n. 1, p. 1, 2013.

RINALDI, B. et al. Exercise training affects age-induced changes in SOD and heat shock protein expression in rat heart. *Experimental gerontology*, v. **41**, n. 8, p. 764-770, 2006.

ROHDE, M. et al. Members of the heat-shock protein 70 family promote cancer cell growth by distinct mechanisms. *Genes & development*, v. **19**, n. 5, p. 570-582, 2005.

SAKAMOTO, K. GRUNEWALD, K. K. Beneficial effects of exercise on growth of rats during intermittent fasting. *The Journal of nutrition*, v. **117**, n. 2, p. 390-395, 1987.

SALWAY, K. D. et al. Higher levels of heat shock proteins in longer-lived mammals and birds. *Mechanisms of ageing and development*, v. **132**, n. 6, p. 287-297, 2011.

SAMALI, A. COTTER, T. G. Heat shock proteins increase resistance to apoptosis. *Experimental cell research*, v. **223**, n. 1, p. 163-170, 1996.

SILVER, J. T. NOBLE, E. G. Regulation of survival gene hsp70. *Cell Stress and Chaperones*, v. **17**, n. 1, p. 1-9, 2012.

STAIB, J. L. et al. Increased temperature, not cardiac load, activates heat shock transcription factor 1 and heat shock protein 72 expression in the heart. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, v. **292**, n. 1, p. R432-R439, 2007.

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*, v. **24**, n. 8, p. 881-886, 1992.

TEE, J. C. BOSCH, A. N. LAMBERT, M. I. Metabolic consequences of exercise-induced muscle damage. *Sports Medicine*, v. **37**, n. 10, p. 827-836, 2007.

TERZIS, G. et al. Resistance exercise-induced increase in muscle mass correlates with p70S6 kinase phosphorylation in human subjects. *European journal of applied physiology*, v. **102**, n. 2, p. 145-152, 2008.

TINSLEY, G. M. et al. Time-restricted feeding in young men performing resistance training: A randomized controlled trial. *European Journal of Sport Science*, p. 1-8, 2016.

VARADY, K. A. et al. Effects of modified alternate-day fasting regimens on adipocyte size, triglyceride metabolism, and plasma adiponectin levels in mice. *Journal of lipid research*, v. **48**, n. 10, p. 2212-2219, 2007.

VARELA, A. et al. Influence of fasting on the effects of ischemic preconditioning in the ischemic-reperfused rat heart. *Archives of physiology and biochemistry*, v. **110**, n. 3, p. 189-196, 2002.

WERNBOM, M. AUGUSTSSON, J. THOMEÉ, 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.

WILKINSON, S. B. et al. Differential effects of resistance and endurance exercise in the fed state on signalling molecule phosphorylation and protein synthesis in human muscle. *The journal of physiology*, v. **586**, n. 15, p. 3701-3717, 2008.

WINBANKS, C. E. et al. Follistatin-mediated skeletal muscle hypertrophy is regulated by Smad3 and mTOR independently of myostatin. *The Journal of cell biology*, v. **197**, n. 7, p. 997-1008, 2012.

YANG, L. et al. Controlled mechanical ventilation leads to remodeling of the rat diaphragm. *American journal of respiratory and critical care medicine*, v. **166**, n. 8, p. 1135-1140, 2002.

YU, Z. F. MATTSON, M. P. Dietary restriction and 2-deoxyglucose administration reduce focal ischemic brain damage and improve behavioral outcome: Evidence for a preconditioning mechanism. *Journal of neuroscience research*, v. **57**, n. 6, p. 830-839, 1999.

ZARE, A. et al. Effect of Ramadan fasting on serum heat shock protein 70 and serum lipid profile. *Singapore medical journal*, v. **52**, n. 7, p. 491-495, 2011.

ZIAEE, V. et al. The changes of metabolic profile and weight during Ramadan fasting. *Singapore medical journal*, v. **47**, n. 5, p. 409, 2006.

5.2 Artigo 2: Whey Protein: suplementação e suas implicações no desempenho físico



Whey Protein: suplementação e suas implicações no desempenho físico

Whey Protein: la suplementación y sus implicancias en el rendimiento físico
Whey Protein: supplementation and its implications on physical performance

*Mestrando em Ciências da Saúde, Universidade Federal da Grande Dourados
 **Pós graduando (*latu sensu*) em Medicina da Atividade física e do Esporte
 Instituto de Ensino e Pesquisa Alfredo Torres
 ***PhD, em Fisiologia e Biofísica
 ****Grupo de Estudos em Atividade Física, Nutrição, Saúde e Desempenho – GEANSD (Brasil)

Valfredo de Almeida Santos Junior* ** ****
 Luiz Alberto Ruiz da Silva* ****
 Raí Porto Rafaine* ****
 Pablo Christiano Barboza Lollo**** ****
juniorfex@gmail.com

Resumo

Um dos suplementos alimentares mais comuns entre os usuários são os compostos por proteínas e/ou aminoácidos, no qual se enquadra as proteínas do soro do leite, mais conhecidos como *Whey Protein*. O objetivo deste estudo é sintetizar os conhecimentos a respeito da suplementação de *Whey Protein* e suas implicações no desempenho físico com o intuito de fornecer informações importantes ao consumo deste suplemento. Estudos evidenciam que as características dos aminoácidos do *Whey Protein* são similares as do músculo esquelético, portanto podem favorecer o anabolismo muscular. *Whey Protein* apresenta a característica de suas proteínas serem mais rapidamente digeridas, transportadas e absorvidas, aumentando as concentrações de aminoácidos plasmáticos logo após a ingestão. As proteínas têm grande influência na recuperação muscular e síntese protéica, portanto a ingestão é fundamental devido à degradação constante de proteínas pelo corpo. A falta de proteínas pode resultar em perda de massa corporal e de desempenho físico. Diversos estudos na literatura evidenciam a melhora da performance tanto em treinamentos resistidos quando em treinamentos de endurance concomitante com a suplementação com *Whey Protein*. Sendo orientado o seu consumo juntamente com carboidratos e próximos ao período do treino. Seu uso parece melhorar a resposta da síntese protéica, a recuperação e diminuir os marcadores de danos musculares.

Unitermos: *Whey Protein*. Suplementação. Nutrição esportiva.

Abstract

One the most common dietary supplements are composed by proteins and / or amino acids, normally known as whey protein. Therefore aim of this study is to synthesize the knowledge about the supplementation with whey protein and its implications on physical performance, to provide important information about the use of this supplement. Studies show that the characteristics of the whey protein amino acids are similar to skeletal muscle, and may promote muscle anabolism. Whey protein has the characteristic of yours proteins are quickly digested, absorbed and transported, promoting acute increasing plasma amino acid concentrations after ingestion. Proteins have great influence on muscle recovery and protein synthesis, so the intake is important owing to the constant degradation of body protein. The lack of protein can result in loss body mass and physical performance. Several studies show the improved physical performance in both resistance training and endurance training by supplementation with whey protein. Instructed that consumption is done with carbohydrates around the training period. Consume of Whey protein seems to improve protein synthesis response, recovery and decrease muscle damage markers.

Keywords: Whey protein. Supplementation. Sport nutrition.

Recepção: 20/04/2015 - Aceitação: 02/06/2015

EFDeportes.com, Revista Digital. Buenos Aires - Año 20 - Nº 205 - Junio de 2015. <http://www.efdeportes.com/>

1 / 1

Introdução

O surgimento de novos produtos de suplementação alimentar ocorre freqüentemente, e a massiva divulgação pelos meios de comunicação a respeito destes suplementos e seus efeitos influenciam no uso indiscriminado em uma grande parcela da população. Há muitas décadas o homem busca recursos que o permitam aumentar a performance e o desempenho em práticas esportivas, a suplementação alimentar é uma forte aliada para alcançar esses objetivos (DANTAS, 2003). São os chamados recursos ergogênicos, que deriva do grego "ergon" que significa "trabalho" e "genes" que significa "produção/criação", portanto qualquer otimização no trabalho total pode ser considerado como recurso ergogênico (Bernstein et al, 2003; Williams, 1992). Os recursos ergogênicos nutricionais, que envolvem carboidratos, proteínas, vitaminas, e outros nutrientes alimentares são os mais utilizados devido ao fácil acesso e menor custo (Maughan et al, 2007), estima-se que embora a prevalência de uso seja maior entre a população considerada "atleta" (Molinero et al, 2009) há uma expressiva parcela de consumidores entre a população "não atleta" (Hirschbruch et al, 2008). Um dos suplementos mais comuns entre os usuários são os compostos por proteínas, no qual se enquadram as proteínas do soro do leite, mais conhecidas como *Whey Protein* (Hallak et al., 2007). Em sua maioria este consumo é realizado sem prescrição por profissionais qualificados, evidenciando uma tendência ao consumo de uma dieta hiperprotéica, com quantidades de proteínas acima das recomendações diárias (Pereira, 2003) o que pode acarretar em complicações hepáticas, renais e metabólicas (Sgarbieri, 2004). Estudos feitos por Petróczi et al (2007) demonstraram que as razões para consumir suplementos alimentares entre atletas apresentaram incongruência com seu real efeito e alguns dos motivos não foram evidenciados na literatura.

Diante deste contexto, torna-se de fundamental importância analisar e sintetizar os avanços científicos sobre o consumo de *Whey Protein* e seus efeitos no desempenho físico, utilizando a literatura publicada até o momento como balizador deste estudo. Tendo em vista a ampla utilização de *Whey Protein* por praticantes de atividades físicas, o objetivo deste estudo é sintetizar os conhecimentos a respeito da suplementação de *Whey Protein* e suas implicações no desempenho físico com o intuito de fornecer informações importantes ao consumo deste suplemento alimentar.

Whey Protein (Proteína do soro do leite)

As proteínas do soro do leite são extraídas do soro do leite que é gerado durante a fabricação de queijo. Estudos sobre as propriedades e aplicabilidades destas proteínas tem se intensificado nas últimas décadas. Estas proteínas possuem uma boa composição de aminoácidos, alta digestibilidade, biodisponibilidade de aminoácidos essenciais e tem apresentado efeitos agudos da suplementação superior a outras proteínas (Etzel, 2004), sendo classificada como alto valor nutritivo devido ao seu perfil de aminoácidos (tabela 1) (Zinsly et al, 2001; Sgarbieri, 2004).

Tabela 1. Perfil dos aminoácidos totais do Whey Protein (Valores médios 100mg)

Alanina	4,9 mg	Leucina	11,8 mg
Arginina	2,4 mg	Lisina	9,5 mg
Asparagina	3,8 mg	Metionina	3,1 mg
Ácido aspártico	10,7 mg	Fenilalanina	3,0 mg
Cisteína	1,7 mg	Prolina	4,2 mg
Glutamina	3,4 mg	Serina	3,9 mg
Acido glutâmico	15,4 mg	Treonina	4,6 mg
Glicina	1,7 mg	Triptofano	1,3 mg
Histidina	1,7 mg	Tirosina	3,4 mg
Isoleucina	4,7 mg	Valina	4,7 mg

Fonte 1. Adaptado de Salzano Jr (2002)

Estudos têm evidenciado que os aminoácidos essenciais, principalmente a leucina, são os principais responsáveis pelo aumento da síntese protéica (Anthony et al, 2001), fato desejável em ocasiões onde necessita de uma maior taxa de síntese protéica como queimaduras e períodos pós cirúrgicos (Biolo et al, 2002) e recuperação muscular e hipertrofia (Cooke et al, 2010) por exemplo.

Whey Protein e desempenho físico

O balanço nitrogenado é definido pela síntese de proteína menos sua degradação e estratégias que façam este balanço permanecer positivo podem resultar em aumento da massa muscular. O exercício é um estímulo para a síntese protéica, entretanto o balanço pode ser negativo nos casos em que a recuperação é feita em jejum (American College of Sports Medicine, 2009; Pitkanen et al, 2003). Exercícios físicos aumentam o gasto energético, resultando no aumento do catabolismo protéico, em especial a oxidação de aminoácidos (Biolo et al, 1995). Entretanto se forem fornecidas proteínas/aminoácidos satisfatoriamente é possível favorecer a síntese protéica e a recuperação muscular, além de manter um balanço nitrogenado positivo (Borsheine, 2004; Tipton, 2007; Tang et al, 2007; Breen et al, 2011; Hansen et al, 2014). A quantidade e o tipo de proteínas fornecidas influenciam nesta resposta (Wolfe, 2000). O *Whey Protein* apresenta a vantagem que suas proteínas são mais rapidamente digeridas, transportadas e absorvidas que a caseína e outras proteínas, aumentando as concentrações de aminoácidos plasmáticos logo após a ingestão (Dangin, 2001).

Ha & Zemel (2003) evidenciam que as características dos aminoácidos do *Whey Protein* são similares aos do músculo esquelético, portanto, podem favorecer o anabolismo muscular. Exercícios resistidos com pesos são o principal meio para obter hipertrofia muscular (Phillips et al, 1999; Hasten et al, 2000). A ingestão de *Whey Protein* potencializa a síntese protéica através do fornecimento adequado de aminoácidos.

Em seu estudo Tang et al (2007) investigou a influência do treinamento resistido combinado com uma pequena dose (10 gramas) de *Whey Protein* na síntese protéica e verificou que o treinamento resistido por si só pode aumentar a síntese protéica. Entretanto, as respostas podem ser maiores se suplementado com proteínas. Assim como Andersen et al (2005) que evidenciou que apenas o grupo suplementado com proteínas demonstrou hipertrofia das fibras tipo I e II após 12 semanas de treinamento resistido. Deixando evidente a eficácia da suplementação com *Whey protein* com intuito de se obter hipertrofia. Em conjunto com o consumo de *Whey Protein* recomenda-se o consumo de carboidratos em uma proporção 1:3 (IVY et al, 2002; Moore et al, 2009), pois deste modo utilizaria a sinalização induzida pela insulina para potencializar a síntese protéica, além de atenuar o catabolismo e promover a recuperação de glicogênio (Ivy et al, 2002). Entretanto a utilização do *Whey Protein* vai além dos benefícios ao treinamento resistido, sendo utilizado como recurso ergogênico em exercícios de endurance (Ivy et al, 2003; Saunders et al, 2004; Hansen et al, 2014).

Saunders et al (2004) ao comparar o efeito da suplementação de uma bebida com carboidratos mais proteínas (7,3 % e 1,8%, respectivamente) ou apenas carboidratos (7,3%) em ciclistas (0,52g de carboidrato + 0,13g de *Whey Protein*/kg ou apenas 0,52g de carboidrato/kg) verificou um maior tempo até a exaustão entre os ciclistas que ingeriram a bebida contendo proteínas, apresentando

melhora de 29% em relação ao grupo que consumiu apenas carboidratos. Além disso, estudos evidenciaram uma melhora na recuperação muscular de atletas de endurance que consumiram *Whey Protein*, diminuindo os marcadores de lesão e melhorando a percepção de esforço (Saunders et al 2004).

A aplicabilidade do *Whey Protein* se estende por uma grande gama de esportes, entretanto, sua dosagem deve ser calculada e prescrita por um profissional qualificado. Deste modo, torna-se preponderante redigir os norteadores para esta prescrição. Como visto neste trabalho, proteínas tem grande influência na recuperação muscular e síntese protéica, portanto a ingestão é fundamental devido à degradação constante de proteínas pelo corpo. A falta de proteínas pode resultar em perda de massa corporal e de desempenho físico (Lemon, 1997). As recomendações diárias para o consumo de proteína para a população normal é 0,8g por quilo corporal, entretanto para indivíduos submetidos a treinamentos exaustivos a quantidade recomendada é um pouco acima deste valor. Habitualmente atletas de força ingerem uma excessiva quantidade de proteína, cerca de 1,6 a 2,8 g/kg de proteína por dia (Tarnopolsky, 2010) e atletas de endurance também apresentam ingestão de proteína acima das recomendações (Paschoal & Amâncio, 2004). As recomendações para atletas de endurance variam de 1,1 g/kg a 1,6 g/kg devido à alta oxidação de aminoácidos decorrentes dos exercícios prolongados (Tarnopolsky, 2004) e para atletas de força a recomendação de ingestão diária de proteína são 1,2 g/kg para atletas avançados e 1,5-1,7 g/kg para atletas iniciantes. Devida a elevada síntese protéica verificada em atletas avançados, valores acima destas recomendações favorecem a maior oxidação de proteínas (Moore et al, 2009; Lemon, 1997; Lemon et al, 1992; Phillips, 2004). Cribb & Hayes (2006) demonstraram em seu estudo que o horário da suplementação com *Whey Protein* possui impacto na síntese protéica e adaptações provenientes do treinamento, sendo indicado seu consumo próximo ao período do treino. Ressaltando que altas doses de proteína diárias não apresentam benefícios, visto que pode estimular a oxidação de proteínas e ter efeitos limitados na síntese protéica (Tarnopolsky, 2010), além de , o alto consumo de proteínas pode provocar uma aceleração da doença renal pré-existente (Friedman, 2004).

Tabela 2. Estudos com *Whey Protein* em humanos – Norteadores gerais

Autor	Objetivo	Resultado	Conclusões
Andersen et al, 2005	Comparar o efeito de 12 semanas de treinamento resistido combinado com suplementação de proteína ou suplementação de Carboidrato sobre hipertrofia e desempenho muscular.	Apenas o grupo Proteínas mostrou hipertrofia nas fibras tipos I e II e melhora na altura do salto "Squat", entretanto o salto contramovimento e pico de torque isocinético aumentou em ambos os grupos.	Foi encontrada uma vantagem na suplementação com proteínas em relação à suplementação de carboidratos, estes achados possuem mais relevância para os indivíduos com o objetivo de hipertrofia muscular.
Hulmi et al, 2009	Verificar se a ingestão de <i>Whey Protein</i> imediatamente antes e depois de uma sessão de treinamento resistido teria um efeito agudo, mas não duradouro sobre os níveis de fosforilação da mTOR e na expressão da miostatina.	Grupo suplementado com <i>Whey Protein</i> aumentou sua massa corporal e a espessura muscular (vasto lateral) já na semana 10. Na semana 21 este aumento estava semelhante entre os grupos (diminuição pós-exercício da miostatina ocorreu apenas no grupo placebo). O aumento da fosforilação de <i>mTOR</i> ocorreu apenas no grupo proteínas.	Exercícios resistidos aumentam a sinalização de <i>Mtor</i> e podem diminuir a expressão da proteína da miostatina no músculo, entretanto a ingestão de <i>Whey Protein</i> aumenta e prolonga a resposta de sinalização da <i>Mtor</i> .
Tang et al, 2007	Verificar o efeito da ingestão de uma pequena dose de <i>Whey Protein</i> com carboidratos pós-exercício na síntese protéica em conjunto com exercício de resistência. (grupo controle=bebida com carboidrato apenas).	Exercício resistido aumentou a síntese de proteína muscular em ambos os grupos exercitados, Entretanto este aumento foi maior no grupo <i>Whey Protein</i> .	Uma pequena dose de <i>Whey Protein</i> (10g) pode estimular a síntese de proteína muscular após exercício de resistência.

Cribb & Hayes, 2006	Comparar o efeito do tempo da suplementação comparando a suplementação de <i>Whey Protein</i> /creatina/glicose em horas distantes do treino. (manhã-noite vs antes-depois).	Suplementação antes/depois do treino apresentou melhor aumento de força e massa magra (aumento da secção transversal das fibras tipo II e proteínas contrácteis), além de apresentar maior concentração de creatina e glicogênio muscular após o treinamento.	Embora simples, a hora da suplementação é uma estratégia eficaz para melhorar as adaptações provenientes do treinamento resistido.
Kerksick et al, 2006	Verificar o efeito da suplementação de <i>Whey Protein</i> na composição corporal, força muscular, resistência muscular e capacidade anaeróbia em 10 semanas de treinamento resistido.	O grupo <i>Whey Protein</i> +Caseína apresentou o maior aumento de massa magra (em relação ao grupo placebo e <i>Whey Protein</i> + Glutamina). Houve aumento significativo de 1RM no supino e leg press em todos os grupos.	A combinação de <i>Whey Protein</i> e caseína promoveram os maiores aumento de massa magra durante 10 semana de treinamento, portanto torna-se uma estratégia para aumento de massa corporal livre de gordura.
Hansen et al, 2014	Verificar o efeito do consumo de <i>Whey Protein</i> hidrolisado antes e após exercício de longa duração no desempenho e recuperação de atletas de corrida de orientação de elite.	Grupo suplementado com <i>Whey Protein</i> melhorou o desempenho no teste de corrida de 4 km. O aumento da concentração de creatina quinase foi maior no grupo controle. Lactato desidrogenase e cortisol não diferiram entre os grupos. Redução da percepção do desempenho foi maior no grupo controle.	A ingestão de <i>Whey Protein</i> hidrolisado melhora o desempenho e reduz os marcadores de lesão muscular durante exercícios extenuantes. A suplementação indica uma melhora na recuperação dos treinamentos extenuantes.
Breen et al, 2011	Determinar a síntese protéica mitocondrial e miofibrilar na ingestão de carboidratos ou carboidratos + <i>Whey Protein</i> seguidos de exercício prolongado na bicicleta.	Aumento dos aminoácidos no plasma só ocorreu no grupo Carboidrato + <i>Whey</i> (C+P) e este grupo teve um maior aumento nas concentrações de insulina e na síntese protéica muscular comparado ao grupo carboidrato. Não houve diferença significativa nas taxas mitocondriais de síntese de proteína.	O estudo demonstrou que a ingestão de proteína mais carboidrato estimula a síntese protéica miofibrilar, e não mitocondrial, seguido de exercício prolongado na bicicleta.

Considerações finais

Diversos estudos na literatura evidenciam a melhora do desempenho tanto em treinamentos resistidos quanto em treinamentos de endurance concomitante com a suplementação com *Whey Protein*. As recomendações de ingestão diária protéica para atletas são ligeiramente maiores que para a população em geral, sendo orientado o seu consumo juntamente com carboidratos e próximos ao período do treino. Bebidas contendo proteínas parecem otimizar a resposta da síntese protéica, melhorar a recuperação e diminuir os marcadores de danos musculares. Estas alterações a curto e a longo prazo podem influenciar positivamente o desempenho físico. Mais estudos precisam ser realizados para definirmos parâmetros ideais para dose/resposta, assim como estabelecer protocolos de fracionamento, melhores momentos para ingestão e a proporção correta de proteínas de acordo com cada esporte. Entretanto, os estudos têm evidenciado cada vez mais respostas positivas em relação ao seu uso.

Bibliografia

- American College of Sports Medicine (2009). American College of Sports Medicine position stand. Progression models in resistance training for healthy adults. *Med Sci Sports Exerc*, 41, 687-708.
- Andersen, L. L., Tufekovic, G., Zebis, M. K., Cramer, R. M., Verlaan, G., Kjaer, M. et al. (2005). The effect of resistance training combined with timed ingestion of protein on muscle fiber size and muscle strength. *Metabolism – Clinical and Experimental*, 54(2), 151 - 156.
- Anthony, J.C., Anthony, T.G., Kimball, S.R. y Jefferson, L.S. (2001) Signaling pathways involved in translation control of protein synthesis in skeletal muscle by leucine. *J Nutr*, 13(3), 856s-60s
- Bernstein, A., Safirstein, J. y Rosen, J.E. (2003). Athletic ergogenic aids. *Bulletin/Hospital for Joint Diseases*, 61(3/4), 164-171.
- Biolo, G., Maggi, S.P., Williams, B.D., Tipton, K.D. y Wolfe, R.R. (1995). Increased rates of muscle protein turnover and amino acid transport after resistance exercise in humans. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 268, E514–E520.
- Biolo, G., Fleming, R.Y., Maggi, S.P., Nguyen, T.T., Herndon, D.N. y Wolfe, R.R. (2002). Inverse Regulation of Protein Turnover and Amino Acid Transport in Skeletal Muscle of Hypercatabolic Patients. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 87(7), 3378–3384.
- Borsheim, E., Aarsland, A. y Wolfe, R.R. (2004). Effect of an amino acids, protein, and carbohydrate mixture in net muscle protein balance after resistance exercise. *Int J Sports Nutr Exer Metab*, 14(3), 255-71.
- Breen, L., Philp, A., Witard, O.C., Jackman, S.R., Selby, A., Smith, K. et al. (2011). The influence of carbohydrate-protein co-ingestion following endurance exercise on myofibrillar and mitochondrial protein synthesis. *J Physiol*, 15:589 (Pt16), 4011-4025.
- Cooke, M.B., Rybalka, E., Stathis, C.G., Cribb, P.J. y Hayes, A. (2010). Whey protein isolate attenuates strength decline after eccentricity-induced muscle damage in healthy individuals. *J Int Soc Sports Nutr*. 22, 7-30.
- Cribb, P.J. y Hayes, A. (2006). Effects of supplement timing and resistance exercise on skeletal muscle hypertrophy. *Med Sci Sports Exerc*, 38(11), 1918-1925.
- Dangin, M., Boirie, Y., Garcia-Rodenas, C., Gachon, P., Fauquant, J., Callier, P. et al. (2001). The digestion rate of protein is an independent regulating factor of postprandial protein retention. *Am J Physiol End Met*, 280(2), E340-E348.
- Dantas, E.H.M. (2003). *A prática da preparação física* (5ª ed.). Rio de Janeiro: Shape.
- Etzel, M.R. (2004). Manufacture and use of dairy protein fractions. *J Nutr*, 134(4), 996s-1002s.
- Friedman, A.N. (2004). High-protein diets: Potential effects on the kidney in renal health and disease. *Am J Kidney Dis*, 44, 950-962.
- Ha, E. y Zemel, M.B. (2003). Functional properties of whey, whey components, and essential amino acids: mechanisms underlying health benefits for active people. *J Nutr Biochem*, 14, 251-258.
- Hallak, A., Fabrini, S. y Peluzio, M.C. (2007). Avaliação do Consumo de Suplementos Nutricionais em Academias da Zona Sul de Belo Horizonte, MG, Brasil. *Revista Brasileira de Nutrição Esportiva*, 1(2), 55-60.
- Hansen, M., Bangsbo, J., Jensen, J., Bibby, B.M. y Madsen, K. (2014). Effect of Whey Protein Hydrolysate on Performance and Recovery of Top-Class Orienteering Runners. *Int J Sport Nutr Exer Metab*, 25(2), 97-109.
- Hasten, D.L., Pak-Loduca, J., Obert, K.A. y Yarasheski, K.E. (2000). Resistance exercise acutely increases MHC and mixed muscle protein synthesis rates in 78-84 and 23-32 yrs old. *Am J Physiol End Met*, 278(4), E620-626.
- Hirschbruch, M.D., Fisberg, M. y Mochizuki, L. (2008). Consumo de suplementos por jovens freqüentadores de academias de ginástica em São Paulo. *Revista Brasileira Medicina do Esporte*, 14(6), 539-543.
- Hulmi, J.J., Tannerstedt, J., Selanne, H., Kainylainen, H., Kovanen, V. y Mero A.A. (2009). Resistance exercise with whey protein ingestion affects mTOR signaling pathway and myostatin in men. *J Appl Physiol (1985)*, 106(5), 1720-9.

- Ivy, J.L., Res, P.T., Sprague, R.C. y Widzer, M.O. (2003). Effect of a Carbohydrate-Protein Supplement on Endurance Performance During Exercise of Varying Intensity. *Int J Sport Nutr Exerc Metab*, 13(3), 382-395.
- Ivy, J.L., Goforth, H.W. Jr., Damon, B.M., McCauley, T.R., Parsons, E.C. y Price, T.B. (2002). Early postexercise muscle glycogen recovery is enhanced with a carbohydrate-protein supplement. *J Appl Physiol*, 93, 1337-1344.
- Kerksick, C.M., Rasmussen, C.J., Lancaster, S.L., Magu, B., Smith, P., Melton, C., et al. (2006). The effects of protein and amino acid supplementation on performance and training adaptations during ten weeks of resistance training. *J Strength Cond Res*, 20(3), 643-53.
- Lemon, P.W.R., Tarnopolsky, M.A., MacDougall, J.D. y Atkinson, S.A. (1992). Protein requirements and muscle mass/strength changes during intensive training in novice bodybuilders. *J appl Physiol*, 73, 767-775.
- Lemon PW. (1997). Dietary protein requirements in athletes. *J Nutr Biochem*, 8, 52-60.
- Luden, N.D., Saunders, M.J. y Todd MK. (2007). Postexercise Carbohydrate-Protein-Antioxidant Ingestion Decreases Plasma Creatine Kinase and Muscle Soreness. *Int J Sport Nutr Exerc Metab*, 17, 109-123.
- Maughan, R.J., Depiesse, F. y Geyer, H. (2007). The use of dietary supplements by athletes. *Journal of Sports Science*, 25(1), 103-113.
- Molinero, O. y Márquez, S. (2009). Use of nutritional supplements in sports: risks, knowledge, and behavioural-related factors. *Nutrición Hospitalaria*, 24(2), 128-134.
- Moore, D.R., Robinson, M.J., Fry, J.L., Tang, J.E., Glover, E.I., Wilkinson, S.B. et al. (2009). Ingested protein dose response of muscle and albumin protein synthesis after resistance exercise in young men. *Am J clin Nutr* 89(1), 161-168.
- Paschoal, V.C. y Amancio, O.M. (2004). Nutritional status of Brazilian elite swimmers. *Int J Sport Nutr Exerc Metab*, 14(1), 81-94.
- Pereira, R.F., Lajolo, F.M. y Hirschbruch, M.D. (2003). Consumo de suplementos por alunos de academias de ginástica em São Paulo. *Revista de Nutrição*.16(3), 265-272.
- Petróczi, A., Naughton, D.P., Mazanov, J., Holloway, A. y Bingham, J. (2007). Performance enhancement with supplements: incongruence between rationale and practice. *J Int Soc Sports Nutr*, 12, 4-19.
- Phillips, S.M., Tipton, K.D., Ferrando, A.A. y Wolfe, R.R. (1999). Resistance training reduces the acute exercise-induced increase in muscle protein turnover. *Am J Physiol End Met*, 276(1), E118-124
- Phillips, S.M. (2004). Protein requirements and supplementation in strength sports. *Nutrition*, 20, 689-695.
- Pitkänen, H.T., Nykanen, T., Knuutinen, J., Lahti, K., Keinanen, O., Alen, M. et al. (2003). Free amino acid pool and muscle protein balance after resistance exercise. *Med Sci Sports Exerc*, 35, 784-792.
- Salzano, JR.I. (1996-2002). Nutritional supplements: practical applications in sports, human performance and life extension. *Symposium series 007*, 75-202
- Saunders, M.J., Kane, M.D. y Todd, M.K. (2004). Effects of a Carbohydrate-Protein Beverage on Cycling Endurance and Muscle Damage. *Med Sci Sports Exerc*, 36(07), 1233-1238.
- Sgarbieri, V.C. (2004). Propriedades Fisiológicas-Funcionais das Proteínas do Soro de Leite. *Revista de Nutrição*, 17(4), 397-409.
- Tang, J.E., Manolagos, J.J., Kujbida, G.W., Lysecki, P.J., Moore, D.R. y Phillips, S.M. (2007). Minimal whey protein with carbohydrate stimulates muscle protein synthesis following resistance exercise in trained young men. *Appl Physiol Nutr Metab*, 32(6), 1132-1138.
- Tarnopolsky, M.A. (2010). Protein and amino acid needs for training and bulking up. En Burke, L. y Deakin, V. *Clinical Sports Nutrition (4thed)*. Australia: McGraw Hill.
- Tarnopolsky, M.A. (2004). Protein requirements for endurance athletes. *Nutrition*, 20(7-8), 662-668.

- Tipton, K.D., Elliott, T.A., Cree, M.G, Aarsland, A.A., Sanford, A.P. y Wolfe, R.R. (2007). Stimulation of net muscle protein synthesis by whey protein ingestion before and after exercise. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 292, E71-6.
- Williams, M. H. (1992). Ergogenic and ergolytic substances. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 24(9), S344-348.
- Wolfe, R.R. (2000). Protein supplements and exercise. *Am J Clin Nutr*, 72(2), 551s-7s.
- Zinsly, P.F., Sgarbieri, V.C., Pereira Dias, N.F.G., Jacobucci, H.B., Pacheco, M.T.B. y Baldini, V.L.S. (2001). Produção piloto de concentrados de proteínas de leite bovino: composição e valor nutritivo. *Braz. J. Food Technol*, 4, 1-8.

Outros artigos [em Português](#)

Recomienda este sitio

	<input type="text"/>	Buscar	 Búsqueda personalizada
<small>EFDeportes.com, Revista Digital · Año 20 · N° 205 Buenos Aires, Junio de 2015 Lecturas: Educación Física y Deportes - ISSN 1514-3465 - © 1997-2015 Derechos reservados</small>			