



USO DE DIFERENTES DOSAGENS DE SUPLEMENTAÇÃO COM *WHEY PROTEIN* SOBRE A HIPERTROFIA MUSCULAR, VARIAÇÃO PONDERAL E CONSUMO DE RAÇÃO

Rochely Luiz Costa Joel¹
Ana Júlia Lilli²
Mariane Róvero Costa³
Tháise Maire Saraiva Ramires⁴
Adriane Gasparino dos Santos Martines Uribe⁵
Geraldo Marco Rosa Junior⁶

^{1,2,3,4}Graduandas do Departamento de Nutrição/Centro de Ciências da Saúde - Universidade do Sagrado Coração (USC) – Bauru/SP – rochely.joel@hotmail.com

^{5,6}Docentes do Departamento de Nutrição/Centro de Ciências da Saúde - Universidade do Sagrado Coração (USC) – Bauru/SP

RESUMO

Uma das medidas mais utilizadas para a manutenção de uma vida saudável e hipertrofia muscular é o treinamento físico e a alimentação adequada é essencial nesse sentido, fornecendo substratos necessários. Destaca-se a importância da ingestão correta de proteína que favorece a síntese e recuperação muscular. Sendo assim, recursos ergogênicos proteicos como o suplemento alimentar *whey protein* têm sido muito utilizado por diversos desportistas, com a proposta de estimular a síntese proteica, regular o apetite e diminuir a gordura corporal. O trabalho objetivou avaliar o consumo de ração, a variação ponderal e muscular de ratos Wistar após um período de administração de *whey protein* (suplemento). O estudo foi realizado com 40 ratos Wistar, durante 45 dias, divididos em 4 grupos (n=10): Grupo Controle (G1) (sedentário + veículo aquoso), Grupo Experimental 1 (G2) (nado forçado com sobrecarga + veículo aquoso) Grupo Experimental 2 (G3) [nado forçado com sobrecarga + suplemento (1,4g/kg/dia)] e Grupo Experimental 3 [nado forçado com sobrecarga + suplemento (2,8 g/kg/dia)]. A média de consumo total de ração foi menor nos grupos G3 e G4. O ganho ponderal médio dos animais do G3 foi menor que dos outros grupos. Através da análise muscular foi observado que os animais do G1 apresentaram área da fibra muscular menor do que dos animais dos grupos G2, G3 e G4. As maiores fibras musculares foram encontradas nos grupos suplementados sem diferença entre as dosagens. Foi possível verificar a eficácia do suplemento na diminuição do consumo, controle do ganho ponderal e na hipertrofia muscular dos animais suplementados juntamente ao exercício.

Palavras-chave: Suplemento alimentar; Proteína; Composição corporal; Exercício físico; Ingestão alimentar.

INTRODUÇÃO

O processo de hipertrofia muscular é uma adaptação muscular ao treinamento, que leva, de maneira geral, através de uma série de adaptações bioquímicas e fisiológicas ao aumento do tamanho das fibras musculares existentes, tanto em diâmetro, quanto em

comprimento e área e à melhora de rendimento esportivo e ao aumento da massa muscular. (HARAGUCHI et al., 2006;).

A alimentação adequada, com consumo balanceado de macronutrientes, é essencial para um bom desempenho do desportista, fornecendo todos os elementos necessários para a execução e melhora dos resultados do exercício. A ingestão de proteína favorece a síntese e recuperação muscular, bem como contribui para o metabolismo energético. (ORMSBEE et al., 2014). Sendo assim, a necessidade proteica para o indivíduo que pratica algum treino de resistência é de 1,2 a 1,4 gramas de proteína por kg de peso por dia, e um atleta de força de 1,5 até 2 gramas de proteína por quilo de peso. (COLOMBANI; METTLER, 2011). Algumas pesquisas verificaram que quando a ingestão de proteína da dieta aumenta de 0,8 para 1,4 gramas por kg de peso ao dia, a síntese proteica aumenta em indivíduos submetidos ao treinamento com peso, mas quando a ingestão é superior a 2,4 gramas por kg de peso, nenhuma diferença significativa no aumento de massa muscular ocorre (OLIVEIRA et al., 2006).

A degradação de proteína aumenta durante o exercício e por isso a necessidade proteica é maior, para que a síntese muscular, após o exercício, ocorra de maneira eficaz. A síntese proteica tende a aumentar temporariamente em um período de até 48 horas após o treinamento de resistência de força. As intervenções nutricionais, então, são as melhores maneiras de influenciar positivamente esse processo de hipertrofia muscular, sendo por isso, que o uso de suplementos alimentares ou ergogênicos nutricionais se encaixam nesse contexto com a proposta de levar, hipoteticamente, ao alcance de resultados mais satisfatórios em fases especiais do treinamento e seu uso vem ganhando mais adeptos a cada dia. (OLIVEIRA, 2013).

O suplemento alimentar proveniente das proteínas solúveis do soro do leite, conhecido como *whey protein*, vem sendo muito utilizado por diversos praticantes de exercício físico, devido, entre outros motivos, à presença dos aminoácidos essenciais, principalmente a leucina, vistos como os principais ou únicos aminoácidos capazes de estimular a síntese proteica. (DICKINSON et al., 2014).

Essa proteína está presente em todos os tipos de leite. No leite bovino representa cerca de 20% do total de proteínas, e os 80% restantes é composto pela caseína, sendo que as quantidades são variáveis (DEVRIES; PHILLIPS, 2015; HARAGUCHI et al., 2006).

As proteínas do *whey protein* são absorvidas mais rapidamente do que outras e isso faz com que as concentrações plasmáticas de aminoácidos, atinjam valores altos logo após a ingestão, promovendo maior anabolismo muscular. (DEVRIES; PHILLIPS, 2015). Além disso, ocorre um aumento significativo da concentração de insulina plasmática, o que pode melhorar a entrada de aminoácidos na célula muscular, dificultando o catabolismo proteico e consequentemente facilitando a síntese muscular (HARAGUCHI et al., 2006).

Outra característica positiva que vem sendo evidenciada sobre o *whey protein* é a sua capacidade em favorecer a redução de gordura corporal, devido à sua grande concentração de cálcio e aminoácidos de cadeia ramificada (ACR). Pesquisas mostram certa relação inversa entre o consumo de cálcio e a gordura corporal, e altas concentrações de ACR favorecendo redução da gordura corporal através do controle glicêmico e no auxílio da manutenção da massa muscular durante a perda de peso. Um outro efeito sobre a redução da gordura corporal e da ingestão alimentar se dá sobre a ação que o *whey protein* exerce sobre os hormônios colecistocinina (CCK) e o peptídeo similar ao glucagon (GLP-1), que quando liberados no duodeno, a partir da presença de nutrientes, são responsáveis pela inibição do apetite. Alguns estudos mostram que as proteínas do *whey protein* favorecem altas concentrações plasmáticas

desses hormônios. (HARAGUCHI et al., 2006). No entanto, estudos sobre o uso excessivo de ergogênicos nutricionais, especialmente o *whey protein*, são escassos, gerando dúvidas sobre a quantidade eficaz comprovada do suplemento. (OLIVEIRA, 2013).

O objetivo do trabalho foi avaliar a variação ponderal e muscular, bem como consumo de ração de ratos Wistar após um período de administração do suplemento *whey protein*.

METODOLOGIA

Animais

Foram avaliados 40 ratos da raça Wistar, com 4 meses de idade, provenientes do Biotério da Universidade Sagrado Coração (USC), mantidos em condições ambientais controladas, com a temperatura em torno de 22 a 23°C e a luz em ciclo claro/escuro de 12h. Foram acondicionados em gaiolas, com cinco animais em cada uma, com acesso *ad libitum* a água e a ração. O procedimento experimental foi realizado após a aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA da Universidade do Sagrado Coração.

Delineamento experimental

Os animais foram distribuídos em 4 grupos: Grupo controle (G1) com administração diária de veículo aquoso através gavagem, durante 45 dias, sem nado forçado; grupo experimental 1 (G2) com administração diária de veículo aquoso por gavagem, durante 45 dias e submetidos ao nado forçado com sobrecarga, por 10 minutos diários, de segunda a sexta-feira; grupo experimental 2 (G3) com administração diária de *whey protein*, na dosagem estabelecida pela American College of Sports Medicine (2009) de 1,4 gramas/quilo/dia de proteína e submetidos ao nado forçado com sobrecarga, por 10 minutos diários, de segunda a sexta-feira; e grupo experimental 3 (G4) com administração diária de *whey protein* na dose de 2,8 gramas/quilo/dia de proteína submetidos ao nado forçado com sobrecarga, por 10 minutos diários, de segunda a sexta-feira. O cálculo de quantidade de suplemento administrado e a porcentagem de sobrecarga para o nado forçado, foi realizado pelo peso semanal dos animais. O *whey protein* utilizado foi isolado.

Adaptação dos ratos ao treinamento físico

Antes de iniciar o treinamento físico, os animais passaram por um período de adaptação durante 5 dias, com nado forçado com sobrecarga, por 5 minutos em água (30±2°) (VOLTARELLI; GOBATTO; MELLO, 2005).

Natação adaptada ou nado forçado com sobrecarga

Os grupos G2, G3 e G4 realizaram o protocolo de exercício de natação com sobrecarga, utilizado para isso um colete de tecido com chumbada preso com velcro ao tórax do animal. A sobrecarga foi calculada e aumentada semanalmente mediante ao peso do animal (5 até 14% do peso corporal). Em cada sessão de exercício os animais realizaram 10 minutos de natação de forma coletiva, em tanque cilíndrico de inox, com água aquecida (32±2°) e preenchida até aproximadamente 40 cm de altura. (VOLTARELLI; GOBATTO; MELLO, 2005).

Observações e medidas realizadas durante o experimento:

Ganho ponderal

Os animais foram pesados semanalmente e o ganho de peso foi obtido pela diferença entre o peso aferido no primeiro dia (PI) e no último dia (PF).

Ração Ingerida

A quantidade de ração ingerida foi determinada diariamente pela diferença entre o peso da ração oferecida e o peso da ração rejeitada.

Eutanásia

A eutanásia foi realizada ao final de 45 dias por exsanguinação através de punção cardíaca, após anestesia intraperitoneal com o anestésico Cloridrato de Cetamina (70-100mg/kg de peso) e o relaxante muscular Cloridrato de Xilazina (10mg/kg de peso).

Medidas realizadas após a eutanásia:

Análise histológica muscular

Após a eutanásia foi retirado o músculo tibial cranial (TC) do animal para realização da histologia muscular, sendo que as amostras dos músculos passaram por um protocolo de congelamento em nitrogênio líquido, para obtenção de cortes histológicos de dez micrômetros em criostato a -20°C e confecção das lâminas histológicas em coloração de Hematoxilina e Eosina (HE).

Análise muscular morfométrica

A captura das imagens foi realizada na objetiva de 20x com auxílio de um microcomputador com software de captura e análise de imagem através de uma câmera acoplada a um microscópio óptico. Todas as imagens foram analisadas com auxílio do programa de análise de imagem Sigma Scan Pro 5.0. Foram mensuradas 200 fibras musculares por animal. A variável morfométrica estudada foi a área da fibra muscular.

Análise estatística

A análise estatística foi realizada com auxílio do Teste *Tukey* (*ANOVA*) no modo pareado e de médias independentes, no sentido de analisar comparativamente os valores médios. No estudo estatístico foram levados em significância valores de $p < 0,05$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Consumo de ração

Foi possível verificar que os grupos que receberam a suplementação apresentaram consumo de ração inferior aos grupos não suplementados, sendo esta diferença estatisticamente significativa. No entanto, não houve diferença entre a média de consumo de ração quando comparados os grupos suplementados com diferentes dosagens. Não houve influencia da natação isolada sobre o consumo de ração quando comparados os grupos G1 e G2. A diminuição da ingestão alimentar encontrada nos grupos suplementados com *whey protein* sugere a relação entre o *whey protein* e a liberação dos hormônios intestinais anorexígenos colecistocinina (CCK) e peptídeo semelhante ao glucagon 1 (GLP-1). Isso corrobora com o que Haraguchi, Abreu e Paula (2006), e Pimentel e Zemdegs (2010) citam em seus artigos de revisão, que ocorre maior estimulação da liberação de CCK e GLP-1 com a

suplementação de *whey protein*, e conseqüentemente maior controle sobre o apetite. Esses hormônios (CCK E GLP-1) são secretados em resposta à ingestão alimentar e apresentam efeito sacietogênico devido à ativação das fibras mecanossensíveis vagais no estômago e duodeno e inibitórios na secreção e motilidade intestinais, especificamente no esvaziamento gástrico, participando do freio gastroduodenal, regulando o fluxo de alimentos do estômago para o intestino, respectivamente. Hipoteticamente o GLP-1 periférico age em fibras das áreas talâmicas e hipotalâmicas responsáveis pelo controle da ingestão alimentar ou até mesmo, através do alcance de receptores livres na barreira hematoencefálica pelo GLP-1 circulantes, e envia sinais anorexígenos aos núcleos hipotalâmicos envolvidos no balanço energético. (PIMENTEL; ZEMDEGS, 2010).

A presença do aminoácido triptofano (2,12%) nesse suplemento também é outra hipótese, pois, segundo Feijó, Bertoluci e Reis (2011) e Rossi e Tirapegui (2004), o aminoácido é precursor do hormônio serotonina (5-HT), que desempenha um importante papel no sistema nervoso, com variadas ações entre elas o controle do apetite.

Variação ponderal

O ganho ponderal médio dos animais pertencentes ao grupo G3 foi menor quando comparado ao ganho ponderal dos grupos G1, G2 e G4.

Resultados encontrados por Vianna (2009) reforçam o observado no presente estudo, que também obtiveram resultados semelhantes aos da presente pesquisa, sendo que observaram menor ganho de peso nos animais que foram suplementados com leucina quando comparado aos animais que receberam dieta padrão com aminoácidos não essenciais. A leucina, que é um dos componentes mais abundantes da formulação do *whey protein* está relacionada com o estímulo a secreção de insulina e é o aminoácido, segundo estudos recentes, mais eficiente na síntese de massa muscular, na redução da proteólise, favorecendo o balanço nitrogenado positivo. (GARCIA et al., 2014; VIANNA, 2009).

A perda de peso também pode estar relacionada com a quantidade de cálcio oferecido através da suplementação de *whey protein* (0,6% do suplemento). Thomaz et al. (2012 apud Garcia et al., 2014) reforçam, através de pesquisa, que a dieta com alto teor de cálcio proveniente de fontes lácteas induz menor de ganho de peso, em modelo experimental.

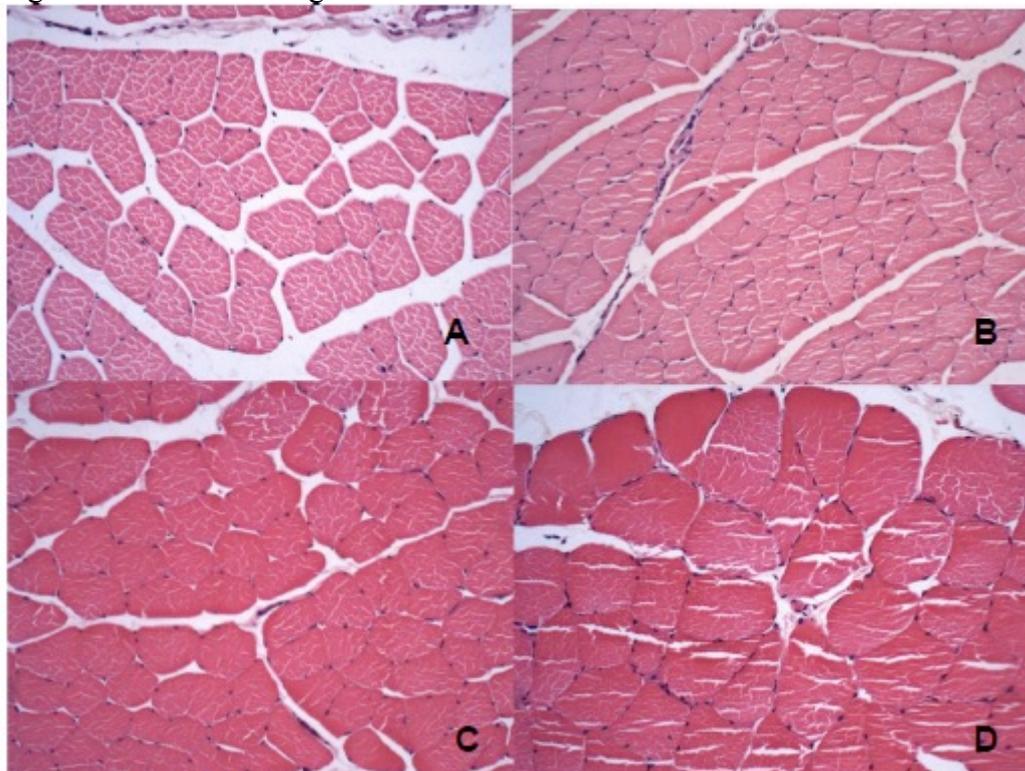
O mecanismo do cálcio na regulação da adiposidade deve-se, hipoteticamente, ao fato do cálcio dietético induzir, via paratormônio (PTH), a redução das concentrações de cálcio intracelular nos adipócitos, levando ao aumento da lipólise e reduzindo a expressão da enzima ácido graxo sintetase, que regula a deposição de gordura nas células adiposas. O cálcio no trato gastrointestinal, também leva ao aumento significativo da eliminação fecal de gordura, segundo alguns estudos. Os resultados da presente pesquisa podem estar relacionados com essa hipótese, pois apesar da quantidade de cálcio proveniente da ração oferecida representar 1,3% da quantidade de cálcio consumida, pode-se perceber que os animais que consumiram apenas ração, sem suplementação de *whey protein*, mostraram ganho de peso maior, pois o cálcio não era proveniente de fontes lácteas.

Análise muscular morfométrica

Através da análise morfométrica do músculo TC, foi possível observar que os animais do G1 apresentaram tamanho médio de área da fibra muscular menor do que dos animais dos grupos G2, G3 e G4 (Figura1). Já os animais suplementados, independentemente da quantidade, apresentaram área muscular maior do que os animais que realizaram apenas o nado forçado com sobrecarga sem a suplementação, apresentando diferença estatisticamente

significativa, no entanto sem diferença com relação as diferentes dosagens do suplemento administradas.

Figura 1 – Corte histológico do músculo tibial cranial dos animais



Fonte: Elaborada pela autora.

Legenda: A: Corte histológico do músculo TC do G1; B: Corte histológico muscular do G2; C: Corte histológico muscular do G3; D: Corte histológico muscular do G4

Moret et al. (2013), ao estudar o efeito do exercício físico concorrente (treino de resistência aeróbia seguido de treino de força) realizado por ratos Wistar, observaram aumento da área de secção transversa do músculo nesses animais quando comparado com os animais do grupo controle não treinado.

Oliveira et al. (2006) observaram através de pesquisa realizada que um grupo com suplementação com 1,8 g/kg de proteína associado a ingestão de maiores quantidades de carboidratos e submetidos ao treinamento de força apresentou aumento da área muscular, sendo que a relação inversa foi encontrada no grupo suplementado com concentrações maiores de proteína, 4g/kg, porem menores de carboidrato (37,4%). Ressalta-se a falta de estudos sobre análise morfométrica muscular utilizando a suplementação de *whey protein* com a prática de exercícios físicos.

CONCLUSÃO

Foi possível concluir que a suplementação com *whey protein* foi eficiente no controle da ingestão alimentar, promovendo menor consumo de ração nos animais que receberam a suplementação, bem como mostrou-se eficaz no controle do ganho de peso quando administrada a dosagem de 1,4 gramas de proteína por quilo juntamente com o exercício físico com sobrecarga. Verificou-se também, que o *whey protein* associado à prática do nado forçado com sobrecarga promoveu resultado positivo na hipertrofia muscular, maior do que

Universidade do Sagrado Coração

Rua Irmã Armanda, 10-50, Jardim Brasil – CEP: 17011-060 – Bauru-SP – Telefone: +55(14) 2107-7000

www.usc.br

quando comparado ao exercício físico isolado. No entanto, a dosagem de 2,8 gramas de proteína por quilo não promoveu efeito anabólico maior do que a dosagem recomendada com 1,4 gramas de proteína por quilo.

REFERÊNCIAS

COLOMBANI, P. C.; METTLER, S. Role of dietary proteins in sports. **International journal for vitamin and nutrition research**, Berne, v. 81, n. 2-3, p. 120-124, mar. 2011. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22139562>>. Acesso em: 14 mar. 2015.

DEVRIES, M. C.; PHILIPS, S. M. Supplemental Protein in Support of Muscle Mass and Health: Advantage Whey. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 80, p. A8-A15, mar. 2015. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/1750-3841.12802/pdf>>. Acesso em: 14 mar. 2015.

DICKINSON, J. M. et al. Leucine-enriched amino acid ingestion after resistance exercise prolongs myofibrillar protein synthesis and amino acid transporter expression in older men. **The journal of nutrition**, Rockville, v. 144, n. 11, p. 1694-1702, nov. 2014. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4195415/pdf/1694.pdf>>. Acesso em: 30 nov. 2015.

FEIJÓ, F. M.; BERTOLUCI, M. C.; REIS, C. Serotonina e controle hipotalâmico da fome: uma revisão. **Revista da Associação Médica Brasileira**, São Paulo, v. 57, n. 1, p.74-77, jan./fev. 2011. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/ramb/v57n1/v57n1a20.pdf>>. Acesso em: 23 nov. 2015.

GARCIA, A. C. et al. Cálcio e a regulação da adiposidade e do peso corporal. **Nutrire**, São Paulo, v. 39, n. 1, p. 144-153, abr. 2014. Disponível em: <<http://revistanutrire.org.br/files/v39n1/v39n1a11.pdf>>. Acesso em: 14 nov. 2015.

HARAGUCHI, F. K.; ABREU, W. C.; PAULA, H. Proteínas do soro do leite: composição, propriedades nutricionais, aplicações no esporte e benefícios para a saúde humana. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 19, n. 4, p. 479-488, jul./ago. 2006. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rn/v19n4/a07v19n4.pdf>>. Acesso em: 27 fev. 2015.

MORET, D. G. et al. Análise morfológica do músculo gastrocnêmio medial de ratos submetidos a um protocolo de treinamento concorrente. **Revista Brasileira Ciências do Esporte**, Florianópolis, v. 35, n. 3, p. 587-597, jul./set. 2013. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbce/v35n3/05.pdf>>. Acesso em: 27 nov. 2015.

OLIVEIRA, P. V. et al. Correlação entre a suplementação de proteína e carboidrato e variáveis antropométricas e de força em indivíduos submetidos a um programa de treinamento com pesos. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, Niterói, v. 12, n. 1, p. 51-55, jan./fev. 2006. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbme/v12n1/v12n1a10.pdf>>. Acesso em: 21 ago. 2015.

OLIVEIRA, R. A. Efeitos das Combinação de diferentes suplementos alimentares na hipertrofia muscular em praticantes de treinamento de força. **Revista Brasileira de Prescrição e Fisiologia do Exercício**, São Paulo, v.7, n. 40, p. 407-417, jul./ago. 2013. Disponível em: <<http://www.rbpfex.com.br/index.php/rbpfex/article/view/524/508>>. Acesso em: 21 ago. 2015.

ORMSBEE, M. J.; BACH, C. W.; BAUR, D. A. Pre-exercise nutrition: the role of macronutrients, modified starches and supplements on metabolism and endurance performance. **Nutrients**, Switzerland, v. 6, n. 5, p. 1782-1808, abr. 2014. Disponível em: <<http://www.mdpi.com/2072-6643/6/5/1782/htm>>. Acesso em: 14 mar. 2015.

PIMENTEL, G. D; ZEMDEGS, J. C. S. Alimentos e nutrientes modulam a libertação de hormonas intestinais anorexígenos. **Acta Medica Portuguesa**, Lisboa, v. 23, n. 5, p. 891-900, set./out. 2010. Disponível em:<<http://www.actamedicaportuguesa.com/revista/index.php/amp/article/view/711/389>>. Acesso em: 20 nov. 2015.

ROSSI, L.; TIRAPEGUI, J. Implicações do sistema serotoninérgico no exercício físico. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, São Paulo, v. 48, n. 2, p. 227-233, abr., 2004. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/abem/v48n2/a04v48n2.pdf>>. Acesso em: 23 nov. 2015.

VIANNA, D. **Efeito da suplementação crônica de leucina na composição corporal e em parâmetros metabólicos de ratos envelhecidos**. 2009. 90 f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/9/9132/tde-11012010-154329/pt-br.php>>. Acesso em: 27 nov. 2015.

VOLTARELLI, F. A.; GOBATTO, C. A.; MELLO, M. A. R. Transição metabólica e teste do lactato mínimo em ratos: nova proposta de quantificação do esforço. **Revista da Educação Física/UEM**, Maringá, v. 16, n. 1, p. 73-78, 2005. Disponível em: <<http://periodicos.uem.br/ojs/index.php/RevEducFis/article/view/3406/2436>>. Acesso em: 29 abr. 2015.